تعیین رابطه پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه (گلوتنین) با ارزش نانوایی لاینهای پیشرفته گندم از طریق تکنیک الکتروفورز

قنبر توحید فر، سیروس عبد میشانی و بهمن یزدی صمدی

دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادان گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی

دانشگاه تهران - کرج

تاریخ پذیرش مقاله ۷۷/۷/۸

خلاصه

به منظور مطالعه رابطه زیر واحدهای گلوتنین دارای وزن مولکولی بالا و ارزش نانوائی گندم نان، ۲۸۰ لاین پیشرفته گندم مورد بررسی قرار گرفت. برای تفکیک زیر واحدهای گلوتنین از روش SDS - PAGE استفاده شد و در مجموع ۱۹ زیر واحد در ۳ مکان ژنی مشاهده گردید که زیر واحدهای ۱۲+۵ ، ۱۲+*۵ از مکان ژنی $GLU\text{-}D_1$ و ۹+۱۷ از مکان $GLU\text{-}B_1$ در مطالعات قبلی شناسائی نشده بود. ارزش نانوایی لاین‌ها با استفاده از آزمایشهای فارینوگراف، ارتفاع رسوب SDS، درصد پروتئین، حجم نان، عدد زلنی و سختی دانه تعیین و نتایج با استفاده از تجزیه واریانس یک طرفه و تجزیه رگرسیون مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. زیر واحدهای ۱ و *۲ از مکان $GLU\text{-}A_1$ و زیر واحدهای ۱۸+۱۷ ، ۱۶+۱۳ و ۸+۷ از مکان $GLU\text{-}B_1$ دارای ارزش بیشتری از لحاظ کیفیت نانوایی نسبت به سایر زیر واحدها بودند، در مکان ژنی $GLU\text{-}D_1$ زیر واحد ۱۰+۵ اثر معنی‌دار و مطلوبتری نسبت به زیر واحد ۱۲+۲ از نظر کیفیت داشت. در تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی ۲ مؤلفه اول ۸۰ درصد اطلاعات داده‌ها را توجیه کردند،همبستگی مولفه اصلی اول با درصد پروتئین، عدد زلنی، حجم نان و سختی دانه و همبستگی مؤلفه دوم با ارتفاع رسوب به ترتیب برابر با ۰/۸۴، ۰/۹، ۰/۸۸، ۰/۶۶، ۰/۹۹ بود. در تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی برای زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا ۴ مولفه اصلی مجموعاً ۸۱٪ واریانس داده‌ها را توجیه نمودند. از فراوانی آللی مبدأ لاین(در هر کشور)، برای محاسبه ضریب عدم تشابه به روش فاصله اقلیدسی و ضریب همسانی ژنتیکی نِی استفاده شد. با بکارگیری این ضرایب و روش تجزیه کلاستر، کشورهای مبدا لاین‌ها در سه گروه قرار گرفتند. براساس محاسبه مقادیر تنوع ژنتیکی از فرمول پیشنهادی نِی (در تمام مکانهای ژنی) برای هر کشور بین تنوع ژنتیکی و امتیاز نانوایی ژنوتیپ رابطه منفی مشاهده شد که ناشی از فشار انتخاب مصنوعی برای تثبیت آلل‌های مطلوب و ارتقاء کیفیت نانوایی است.

واژه‌های کلیدی: گندم، گلوتنین، پروتئین‌های ذخیره‌ای، ارزش نانوایی و الکتروفورز.

مقدمه

مطلوبیّت آرد برای تهیه نان بستگی به کیفیت و کمیّت گلوتن و اجزاء مهم تشکیل دهنده آن یعنی پروتئین‌های ذخیره‌ای عمده دانه گندم (گلوتنین و گلیادین) دارد. گلوتن گندم استعداد ایجاد حفره‌های ریزی که گاز CO_2 را نگهداری می‌کنند به خمیر می‌دهد که در حین عمل ورآمدن خمیر بوسیله مخمر طبیعی یا شیمیایی ایجاد می‌شوند(۲).

گلیادین گروه بزرگی از پروتئین‌هاست که متوسط وزن

مولکولی آن حدود ۴۰/۰۰۰ دالتون و شامل ۳۰ تا ۳۵ نوع پلی‌پپتید است که بصورت توده به هم پیوسته نیستند و در هنگام جذب آب حالت لزوجت به خمیر می‌دهند و به علت اثرات متقابل با چربی‌ها باعث نگهداری گاز CO_2 در موقع تخمیر می‌شوند (۱۵و۱). گلوتنین‌ها گروه ناهمگنی از پروتئین‌ها هستند که چند زنجیره‌ای بوده و شامل پیوندهای دی‌سولفید بین و داخل مولکولی بوده و حالت استحکام و ارتجاعیت به خمیر می‌دهند(۱۴و۱۵). با غلظت پایین ۲ - مرکاپتواتانول [1] پیوندهای دی‌سولفیدی بین مولکولی که در دسترس نیستند احیاء می‌شوند و با غلظت بالاتر پیوندهای دی‌سولفیدی بین مولکولی و داخل مولکولی احیاء می‌شوند(۱۱). لزوجت گلوتنین‌ها با از بین رفتن پیوندهای دی‌سولفیدی کاهش می‌یابد(۱۰). تکامل خمیر مربوط به پیوندهای دی‌سولفیدی بین مولکولی می‌باشد که با غلظت پایین مرکاپتواتانول احیاء می‌شوند (۱۸).

آلل‌های ژنتیکی کد کنندهٔ گلوتنین‌های با وزن مولکولی بالا در سه مکان ژنی مرکب ($GLU-D_1$, $GLU-A_1$ و $GLU-B_1$)روی بازوی بلند کروموزومهای همیولوگ گروه ۱ قرار دارند (۳). ماکری‌تیچ و همکاران (۱۹) نشان داده‌اند که ۶۰ - ۵۰ درصد خاصیت نانوایی گندم توسط مکان ژنی ($GLU-B_1$, $GLU-A_1$, $GLU-D_1$)GLU-1 تعیین می‌گردد. پاین و لارنس (۲۳) برای مکان ژنی $GLU-A_1$ سه آلل، مکان ژنی $GLU-B_1$ یازده آلل و مکان ژنی $GLU-D_1$ شش آلل گزارش کرده‌اند، گوپتا و همکاران (۱۲) ثابت کرده‌اند که اثر گلوتنین‌های با وزن مولکولی بالا بر روی پارامترهای استحکام خمیر بیشتر از گلوتنین‌های با وزن مولکولی پائین می‌باشد. چون گلوتنین‌های با وزن مولکولی بالانقش بیشتری در ایجاد پلیمرهای بزرگ دارند و همه گلوتنین‌های با وزن بالا اسید آمینه سیستئین در دو انتهای مولکول دارند در حالیکه گلوتنین های با وزن مولکولی پائین در قسمت پایانه N اسید آمینه سیستئین ندارند که این اختلاف در شکل و اندازه پلی‌مرها تاثیر می‌گذارد. تحقیقات گوپتا و همکاران(۱۳) نشان داده که خمیر حاصل از ژنوتیپ‌های با زیر واحد ۱۸+۱۷ مقاومت کمتری نسبت به زیر واحد ۸+۷ دارد. در مقایسه با زیر واحد ۱۲+۲ خمیر حاصل از ژنوتیپ‌های ۱۰+۵ مقاومت بیشتری دارد. در مطالعه‌ای (۲۵) شامل ۲ رقم کراکا[2] و سی‌تادل [3] با زیر واحدهای مشابه که در شش محل مختلف کشت شده بودند مشخص شد که کیفیت نانوائی خمیر رقم کراکا بهتر از سی‌تادل بود و این نشان می‌دهد که تاثیر جنبه‌های کمی زیر واحد در کیفیت بسیار مهم می‌باشد. برانلارد و داردیوت(۴) در مقایسه واریته‌ها دو تیپ از زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی زیاد را تشخیص دادند. یکی گروهی که با قدرت و ارتجاعیت گلوتن همبستگی داشتند (*۲و ۱۰+۵و ۹+۷)و دیگر گروهی که با قابلیّت توسعه خمیر همبستگی داشتند(۱و ۱۶+۱۳و ۱۸+۱۷). شواهد زیادی حاکی از آن است که مکان ژنی GLI-1 که امگا و بتاگلیادین راکُد می‌کند با مکان ژنی GLU-3 که گلوتنین‌های با وزن مولکولی پایین راکد می‌کند و روی بازوی کوتاه کروموزوم‌های گروه یک واقع شده‌اند همبستگی دارند(۲۶) در مطالعه‌ای (۸) ۷۲ رقم گندم ایتالیایی هگزاپلوئید حاوی نوارهای گاماگلیا دین ۴۰/۵ و ۴۳/۵ انجام شده واریته‌های دارای نوار گاما ۴۰ شامل نوار LMW-3 [4] با حرکت نسبی پایین‌تر از نوار LMW-4 موجود در واریته‌های حاوی نوار گاما ۴۳/۵ بودند. بر اساس مطالعات ژنتیکی مشخص شد نوار گاماگلیادین ۴۳/۵ با گلوتن قوی و گاما ۴۰ با گلوتن ضعیف و حجم نان کم رابطه دارد. طی همین تحقیقات مشخص شد که نوار LMW-3،LMW-4 ا بترتیب باعث ضعف و قوت گلوتن هستند و نوارهای گلیادین به عنوان نشانگر ژنتیکی عمل می‌کنند.

هدف از این تحقیق دستیابی به اطلاعات مناسب جهت استفاده کاربردی از تنوع پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه گندم در پیش‌بینی کیفیت نانوایی بوده است تا در نسلهای اولیه حاصل از تلاقی با اندک بذری که در اختیار است بتوان با روش SDS-PAGE [5] لاین‌های با گلوتن ضعیف را حذف نمود. چون این روش به تنهائی نمی‌تواند تفاوت بین ژنوتیپ‌ها را از لحاظ کیفیت مشخص نماید و آزمایش رسوب در مقیاس کوچک و روش فارینوگراف مطرح گردیده تا در نهایت تاثیر زیر واحدهای متفاوت و رابطهٔ آنها باکیفیت نانوایی تعیین گردد.

1 - Mercaptoethanol
2- Kraka
3- Citadel
4 - Low molecular weigth glutenin
5 - Sodium dodecyl suphate polyacrylamide gel electrophoresis

مواد و روشها

در این تحقیق ۲۸۰ لاین پیشرفته گندم نان (نسل‌های F_8 و F_9 گندم بخش به نژادی موسسه اصلاح بذر کرج) که محصول سال ۱۳۷۴ بودند در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی کرج مورد ارزیابی قرار گرفتند (از هر لاین ۵ عدد بذر). برای بررسی گلوتنین‌ها از ژل اکریل آمید ۱۰ درصد از طریق تکنیک SDS-PAGE که توسط فولینگتن و همکاران (۱۰) تعدیل شده است استفاده شد. ژل ۷/۵ و ۱۲ درصد به ترتیب برای تفکیک زیر واحد ۲ و *۲ از هم و زیر واحد ۹ و ۱۰ بکار رفت. تشخیص زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا طبق روش پاین و همکاران (۲۴) انجام گرفت. آزمون فارینوگراف و تفسیر فارینوگرام‌ها طبق کاتولوگ ارائه شده آن انجام شد(۴) و اطلاعات مناسبی از خواص خمیر مانند درصد جذب آب، مدت زمان اختلاط، پایداری خمیر، میزان شل‌شدن در نهایت ارزش والریمتری بدست آمد. جهت انجام آزمایش رسوب SDS از روش دیک و کوئیک (۹) با تغییراتی که توسط منصور و همکاران (۲۰) داده شده بود استفاده شد. درصد پروتئین، حجم نان، عدد زلنی، سختی دانه با استفاده از دستگاه NIR [1] تعیین گردید.

برای بررسی اثر مکان‌های ژنی گلوتنین بر روی حجم رسوب و خصوصیات کیفی دانه از برنامه GLM نرم‌افزار SAS استفاده شد. این نرم‌افزار مکان‌های ژنی و زیر واحدهای موجود در هر مکان ژنی را به عنوان فاکتور و سطوح هر فاکتور در نظر می‌گیرد. برای انجام تجزیه همبستگی، زیر واحدها به صورت متغیر نشانگر (۱۷) در نظر گرفته شدند و حضور و عدم حضور زیر واحدها به ترتیب با اعداد یک و صفر مشخص شد. این آزمون با استفاده از برنامه CORR نرم‌افزار SAS انجام شد. برای گروه‌بندی کشورهای مبداء لاین از تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA [2] با استفاده از گزینه Cluster نرم‌افزار SPSS استفاده شد. جهت انجام تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و به منظور یافتن ترکیباتی از P متغیر X_1، X_2، ....و X_p جهت ایجاد شاخصهای مستقل Z_1، Z_2، ...، Z_p از متغیرهای صفات کیفی اندازه‌گیری شده‌دانه‌ازبرنامه Prin Comp درنرم‌افزار SAS استفاده شد.

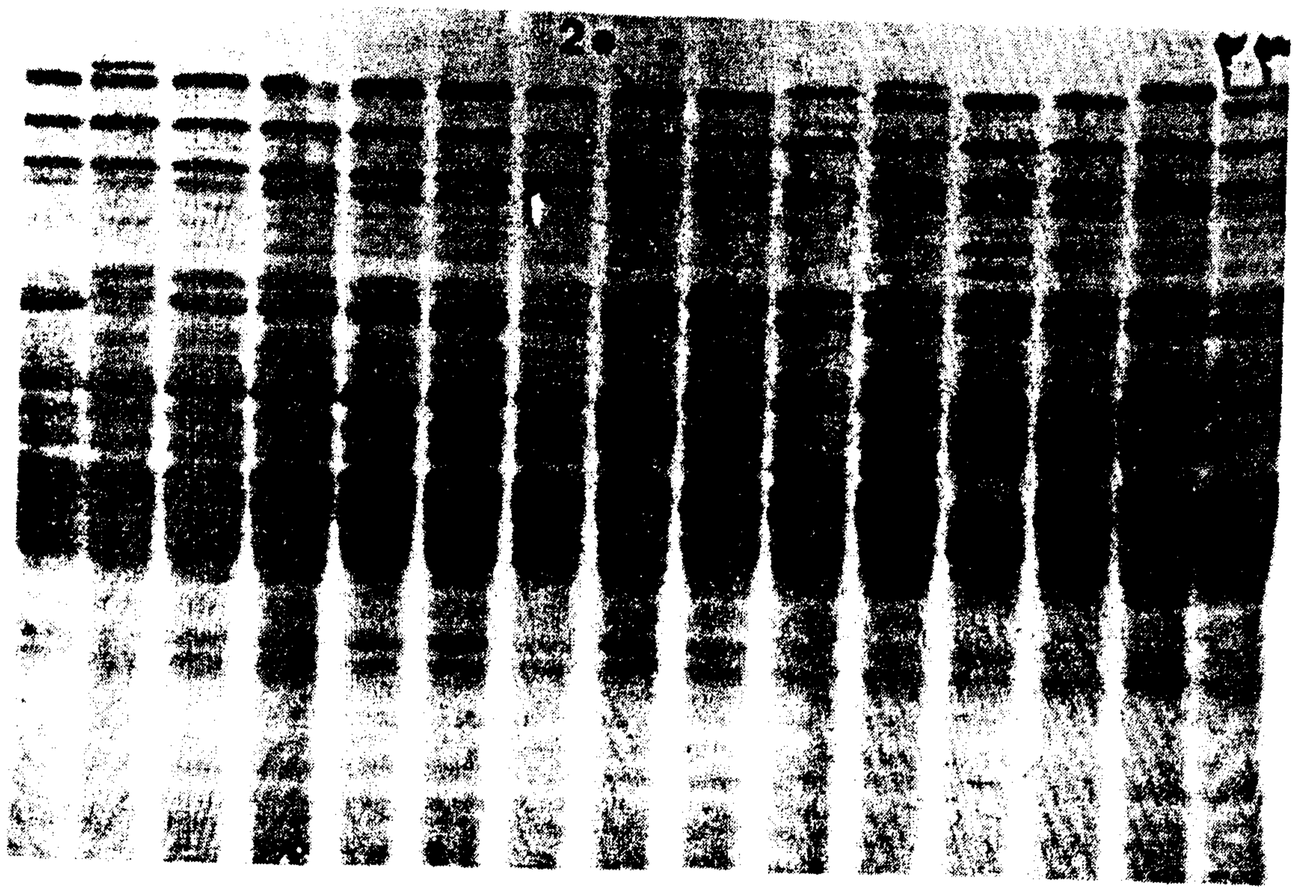
نتایج و بحث

در مکان ژنی $GLU\text{-}A_1$ زیر واحدهای ۱ و *۲، در مکان ژنی $GLU\text{-}D_1$ زیر واحد ۱۰+۵ و در مکان ژنی $GLU\text{-}B_1$ زیر واحدهای ۱۸+۱۷، ۹+۷ ، ۸+۷ به کرات مشاهده شد. با توجه به اینکه این زیر واحدها در گندم دارای تاثیر مثبت برروی کیفّیت هستند حضور آنها در لاین‌های مورد بررسی یک امتیاز مهم به حساب می‌آید. در مجموع ۱۹ زیر واحد در سه مکان ژنی مشاهده گردید که تعدادی از آنها درمطالعات قبلی شناسایی نشده بود. به عنوان مثال می‌توان زیر واحد ۹+۱۷ از مکان ژنی $GLU\text{-}B_1$ را نام برد که جزء X آن در سطح زیر واحد ۱۷ و جزء Y آن در سطح زیر واحد ۹ ظاهر شد. دو زیر واحد در مکان ژنی $GLU\text{-}B_1$ مربوط به زیر واحدهایی بودند که مشابه آنها قبلاً توسط لافیندرا (۱۶) در گندم فیرولو [3] و مورگانو و همکاران (۲۱) تحت عنوان ۱۲+۵ و ۱۲+ *۵ گزارش شده‌اند، بطوری که جز X مربوط به زیر واحد ۱۲+*۵ بالاتر از زیر واحد ۵ و پایین‌تر از زیر واحد ۲ ظاهر شد (شکل ۲). لافیندرا و همکاران (۱۶) نشان دادند که زیر واحد *۵ حاصل جهش نقطه‌ای در نوکلئوتید ۳۴۴ زیر واحد ۲ می‌باشد که باعث می‌شود اسید آمینه سرین جایگزین اسید آمینه سیستئین شود.

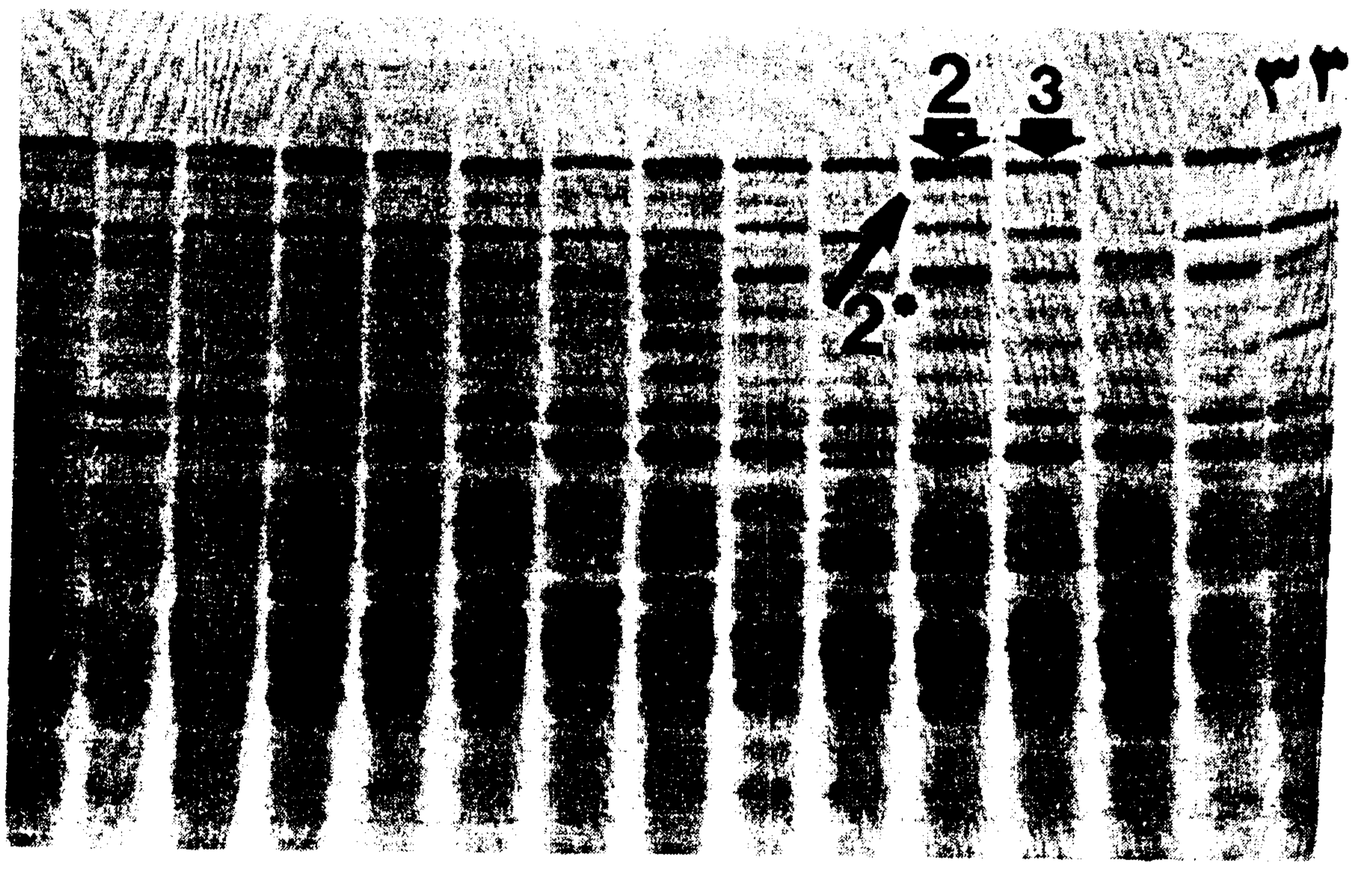
دندورگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای کشورهای مبدأ لاین از نقطه نظر ضریب همسانی ژنتیکی (۲۲) در شکل ۱ دیده می‌شود. با توجه به این شکل کشورهای مبدأ لاین به سه گروه تقسیم شده‌اند. از موارد قابل توجه در کلاستر اول زیر کلاستر مکزیک - سوریه - ایران با آب و هوای شاخص مدیترانه‌ای گرم و خشک و تبادل مواد ژنتیکی بین آنها می‌باشد. زیر کلاستر بعدی شامل آمریکا - بلغارستان - مجارستان می‌باشد که سابقه طولانی در اصلاح گندم دارند. تمام آلل‌هایی که در این کلاستر یافت می‌شوند امتیاز زیادی از نظر کیفیت نانوائی دارند. در کلاستر دوم کشورهای رومانی و ترکیه قرار دارند که در مکان ژنی $GLU\text{-}D_1$ آنها زیر واحد ۱۰+۵ با فراوانی صددرصد دیده می‌شود. میانگین امتیاز ژنوتیپ این کلاستر بیشتر از کلاستر اول است. در کلاستر سوم زیر واحدهای ۱ و ۱۲+۲ با فراوانی صددرصد مشاهده شدند که امتیاز ژنوتیپ آنها پایین‌تر از کلاستر دوم است.

جهت تجزیه به مولفه‌های اصلی از متغیرهای حجم‌رسوب،

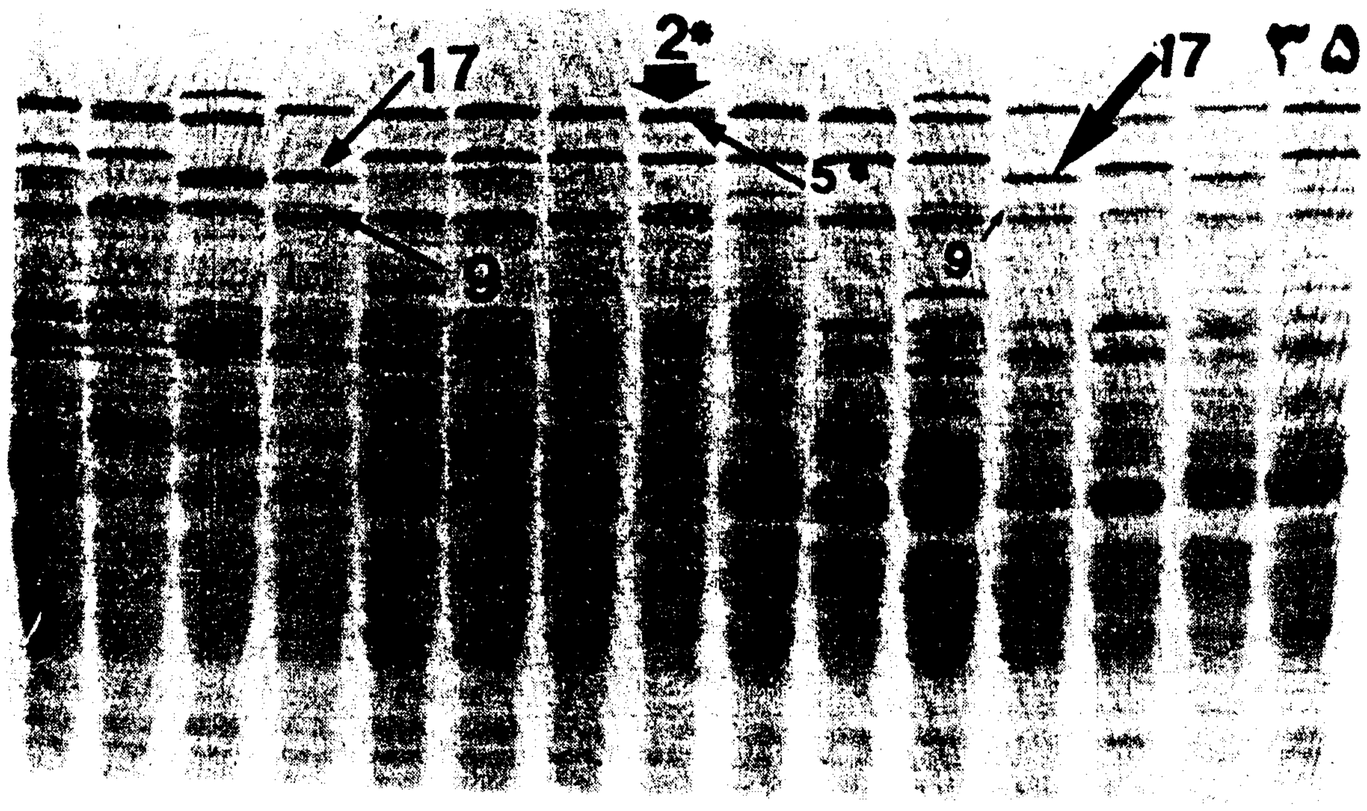
1 - Near infrarete
2- Nweighted pair Group method using arthmathic average
3 - Firollo



ژل ۱۰ درصد به روش SDS-PAGE

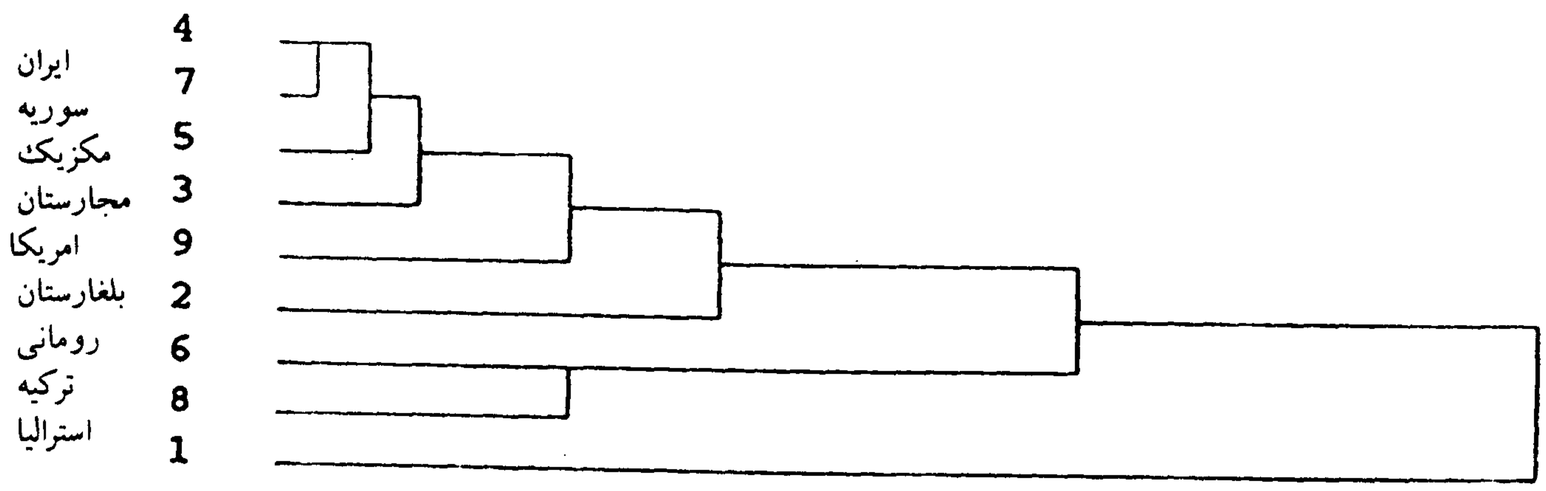


ژل ۷/۵ درصد به روش SDS-PAGE



ژل ۱۰ درصد به روش SDS-PAGE

انواع زیر واحدهای مشاهده شده گلوتنین‌های با وزن مولکولی بالا به روش SDS-PAGE



شکل ۱ - دندورگرام تجزیه کلاستر برروی ضرایب همسانی ژنتیکی کشورهای مبداء لاین‌ها

درصد پروتئین، عددزلنی، حجم نان و سختی دانه استفاده شد که نتایج در جداول ۱ و ۲ آمده است. بعد از استاندارد کردن داده‌ها ۲ مؤلفه اول ۸۰٪ اطلاعات داده‌ها (جدول ۱) را توجیه نمودند. بدیهی است که این مؤلفه‌ها می‌توانند جایگزین ۵ متغیر اصلی شوند که کاهش حجم زیادی از داده‌ها را به همراه دارد بدون اینکه اطلاعات زیادی راجع به متغیرهای اصلی از دست برود. اولین مؤلفه، وزنهای مثبت به تمامی متغیرها می‌دهد و به عنوان شاخصی از کیفیت محسوب می‌شود. مؤلفه دوم دو گروه متغیرها یعنی ارتفاع رسوب را از یک طرف و درصد پروتئین و سختی دانه را از طرف دیگر با یکدیگر مقایسه می‌کند. برای قضاوت در مورد اینکه تا چه اندازه دو مؤلفه اصلی تعریف خوبی برای ۵ متغیر اولیه است، همبستگی چندگانه بین مؤلفه‌ها و متغیرها محاسبه شد که مؤلفه اول بیشتر روی متغیرهای

جدول ۱ - نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی مربوط به متغیرهای کمی

		ریشه‌های مشخصه				
مؤلفه‌ها	واریانس مؤلفه‌ها	X_1 (ارتفاع رسوب)	X_2 (درصدپروتئین)	X_3 (عددزلنی)	X_4 (حجم‌نان)	X_5 (سختی نان)
۱	۰/۶۰	۰/۲۴	۰/۵	۰/۵۲	۰/۵۱	۰/۳۸
۲	۰/۲۱	۰/۹۵	-۰/۰۷	-۰/۰۳	-۰/۲۷	-۰/۱
۳	۰/۱۵	۰/۰۲۸	-۰/۵۳	-۰/۱	-۰/۰۲	۰/۸۳
۴	۰/۰۶	۰/۱۵	۰/۰۹	-۰/۷۵	۶۲	۰/۰۲
۵	۰/۰۳	-۰/۰۷	۰/۶۷	-۰/۳۶	-۰/۵۱	۰/۳۶

جدول ۲ - ضرایب همبستگی بین متغیرهای اصلی و دو مؤلفه اول با آنها

	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	Z_1	Z_2
ارتفاع رسوب	۱	۰/۲۶	۰/۳	۰/۱۶	۰/۲	۰/۴۱	۰/۹
درصدپروتئین	–	۱	۰/۷۳	۰/۷۲	۰/۲۶	۰/۸۴	۰/۰۷۰۶
عدد زلنی	–	–	۱	۰/۶۸	۰/۵	۰/۹	-۰/۰۳
حجم نان	–	–	–	۱	۰/۵۵	۰/۸۸	-۰/۲۵
سختی نان	–	–	–	–	۱	۰/۶۶	۰/۰۸۶

حجم نان و عدد زلنی و مؤلفه دوم روی متغیرارتفاع رسوب تکیه دارد.

براساس فرمول پیشنهادی نی (۲۲) مقادیر تنوع ژنتیکی (H) برای هر مکان ژنی برای ۹ کشور مبداء لاین محاسبه شد(جدول ۳) و معادله رگرسیون بین تنوع ژنتیکی (H) و امتیاز ژنوتیپ به صورت H=۹+۲/۷X و همبستگی بین تنوع ژنتیکی و امتیاز ژنوتیپ برابر با r= -۰/۶ بدست آمد مورگانو و همکاران (۲۱) این میزان همبستگی را r= -۰/۵ گزارش کرده‌اند و آنرا ناشی از اعمال فشار انتخاب در طول تکامل در جهت تثبیت آلل‌های مطلوب دانسته و مشخص نمودند واریته‌های با میزان تنوع ژنتیکی پایین کیفیت بالایی دارند.

نتایج تجزیه واریانس برای تاثیر مکان‌های ژنی و مقایسه میانگین‌ها و همبستگی خصوصیات کیفی و زیر واحدها در جداول ۴ تا ۶ نشان داده شده‌اند. بطوریکه مشاهده می‌شود این آزمون برای

جدول ۳ - میزان تنوع ژنتیکی برای مبدأ لاین‌ها(کشور)

کشور	GLU-A1	GLU-B1	GLU-D1	H	امتیازژنوتیپ‌نانوائی (براساس پاین)
استرالیا	۰	۰/۶۷	۰	۰/۳۰	۸
بلغارستان	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۴	۷/۶
مجارستان	۰/۵۴	۰/۵۴	۷۲	۰/۶۴	۶/۷
ایران	۰/۶۶	۰/۷۱	۰/۵	۰/۶۳	۸
مکزیک	۰/۵۲	۰/۶۷	۰/۴۳	۰/۵۵	۸/۳
رومانی	۰/۴۵	۰	۰	۰/۲۲	۸/۷
سوریه	۰/۶۴	۰/۶۲	۰/۴۹	۰/۶۰	۸
ترکیه	۰/۳۷	۰/۷۵	۰	۰/۵	۷/۷
امریکا	۰/۶۴	۰/۶۶	۰/۶۰	۰/۶۸	۶/۷
میانگین	۰/۴۶	۰/۴۷	۰/۳	۰/۵	

جدول ۴ - میانگین مربعات برای خصوصیات کیفی

مکان ژنی	ارتفاع رسوب	حجم نان	سختی دانه	ارزش والریمتری	تکامل خمیر	میزان شل شدن	جذب آب %	پایداری خمیر	پروتئین درصد
GLU-A1	۳۳۹۱/۸**	۱۲۵۰۱**	۱۷۲**	۸۳	۳/۲	۴۵۳۵	۵/۵	۲۴/۳	۱
GLU-B1	۶۲۳/۶*	۴۰۱۶/۵	۹۲	۱۹۸**	۲۶/۹	۹۱۸۲/۲*	۱۳/۱	۱۴/۴	۲/۶**
GLU-D1	۱۷۷۳/۲*	۱۱۲/۷	۴۱/۴	۲۲۶**	۰/۳	۵۲۴۱	۱/۳	۴۷/۷*	۰/۴
GLU-A1xGLU-B1	۳۷۷/۷	۵۴۹۹/۳	۴۳	۶۲	۱۲	۱۹۵۸	۵/۷	۱۲/۸	۱
GLU-A1xGLU-D1	۶۶۸/۴*	۷۱۲۵*	۵۱	۷/۱	۲۳/۶	۵۱۸	۲۳/۲	۸/۴	۲/۵*
GLU-B1xGLU-D1	۶۵۶/۸*	۲۴۵۷	۱۰۱/۹*	۷۹*	۱۹/۳	۲۷۱۴	۶/۵	۶/۲	۰/۴
GLU-A1xGLU-B1xGLU-D1	۰/۳*	۷۸۳	۴۰/۵*	۶/۶*	۱۱۴/۸	۴۹۳	۶/۵	۷/۲	۰/۴
R^2	۰/۳	۰/۲	۰/۲	۰/۸	۰/۶	۰/۸	۰/۷	۰/۷	۰/۱۹

*و** بترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

اثرات اصلی GLU-A1 برای ارتفاع رسوب، حجم‌نان، سختی دانه معنی‌دار گردید. مقایسه میانگین‌ها به روش دانگن نشان داد که زیر واحدهای ۱ و *۲ هر دو ارزش والریمتری، حجم نان، ارتفاع رسوب SDS و پایداری خمیر بهتری نسبت به زیر واحد نول [1] دارند که با نتایج کریسی و همکاران (۷) مطابق است. اثرات اصلی مکان ژنی B1 برای ارتفاع رسوب و ارزش والریمتری و هم چنین میزان شل شدن خمیر، درصد پروتئین معنی‌دار شد که با نتایج منصور و همکاران (۲۰) مطابقت دارد. زیر واحد ۷ دارای میانگین بیشتری برای صفت شل شدن خمیر و میانگین کمتری برای ارزش والریمتری بود با توجه به ضرایب همبستگی، مشاهده می‌گردد که زیر واحد ۷ با ارزش والریمتری همبستگی منفی (r= -۰/۳۷**) و با صفت شل شدن خمیر همبستگی مثبت (r=۰/۳*) داشته که بر ارزش نامطلوب آن صحّه می‌گذارد. زیر واحد ۸+۷ بالاترین میانگین برای ارزش والریمتری و کمترین میانگین برای صفت شل شدن خمیر را دارد بامراجعه به جداول همبستگی نتایج اخیر قابل انتظار است که با نتایج کمپیل و همکاران(۶) مطابقت دارد.

زیر واحدهای ۱۶+۱۳ و ۸+۷ کمترین میانگین را برای صفت شل‌شدن خمیر داشتند که مطلوب است. در مکان ژنی D1 زیر واحد ۱۰+۵ در کلیه صفات بجز شل‌شدن خمیر بالاترین میانگین را نسبت به بقیه زیر واحدها دارد که با نتایج پاین و همکاران (۲۴)، کریسی و همکاران(۷)، کمپ بل و همکاران (۶) مطابق است. زیر واحد ۱۲+۲ میانگین بالاتری را برای صفت شل‌شدن خمیر و تکامل خمیر نسبت به زیر واحد ۱۰+۵ نشان داده با توجه به همبستگی منفی بین دو صفت تکامل خمیر و میزانِ شل‌شدن (r= -۰/۴۳*) این دو نتیجه خلاف هم هستند که ممکن است میانگین بالای تکامل خمیر متاثر از همبستگی مثبت و معنی‌دار زیر واحد ۱۲+۲ با زیر واحد ۱ (r=۰/۲۱*) باشد. زیرا واحد ۱ با صفت تکامل خمیر همبستگی مثبت دارد.

جدول ۵ - میانگین صفات مربوط به کیفیت نانوائی برای زیر واحدهای گلوتنین با وزن ملکولی بالا

پروتئین خمیر (درصد)	پایداری خمیر (دقیقه)	جذب آب (درصد)	میزان شل‌شدن (فارینوگراف)	تکامل خمیر (دقیقه)	ارزش والریمتری	سختی دانه	حجم نان (ml)	ارتفاع رسوب (mm)	زیرواحدهای‌گلوتنین باوزن ملکولی بالا
۱۰/۸a	۰/۹۱a	۶۸/۸a	۲۰۵/۳b	۱/۴a	۳۳/۵a	۵۸a	۴۰۷/۴a	۴۸/۹a	۲*
۱۰/۷a	۰/۸۶a	۶۷/۷a	۲۲۲/۶ab	۱/۵a	۳۲a	۵۶ab	۳۹۵/۷ab	۴۶/۷a	۱
۱۰/۵a	۰/۵۱b	۶۷/۳a	۲۴۹/۳a	۱/۳a	۲۷/۵b	۵۵b	۳۸۱b	۳۵/۷b	نول
۱۰/۳ab	۰/۵۶a	۶۶/۴ab	۲۵۴ab	۱/۱a	۲۵/۶c	۵۵a	۳۹۱/۲a	۴۲/۶b	۷
۱۰/۲b	۰/۷۷a	۶۵/۸b	۲۳۳b	۱/۵a	۲۹bc	۴۹b	۳۵۸/۵b	۴۲/۳b	۶+۸
۱۰/۴ab	۰/۹۶a	۶۹/۶a	۱۶۶c	۱/۶a	۳۹a	۵۷/۶a	۳۹۰/۵a	۴۷/۷ab	۷+۸
۱۰/۹a	۰/۵۵a	۶۸/۳a	۲۶۶a	۱/۴a	۲۵/۷c	۵۷/۲a	۴۰۷/۹a	۴۲/۸b	۷-۹
۱۰/۸ab	۰/۹۸a	۶۷/۳ab	۲۱۱bc	۱/۷a	۳۴ab	۵۷/۳a	۲۹۹/۱a	۵۴/۸a	۱۳+۱۶
۱۰/۸ab	۰/۹۷a	۶۷/۱ab	۲۱۸ab	۱/۱a	۳۲b	۵۷/۳a	۳۹۴/۳a	۴۴/۴ab	۱۷+۱۸
۱۰/۶a	۰/۶۶a	۶۷/۶a	۲۲۸a	۱/۵a	۲۹/۸a	۵۶a	۳۹۵a	۴۰/۲ab	۲+۱۲
۱۰/۵a	-	-	-	-	-	۵۷/۷a	۴۰۶/۷a	۲۷b	۳+۱۲
۱۰/۷a	۰/۹۱a	۶۷/۹a	۲۱۶a	۱/۴a	۳۳/۱a	۵۷/۵a	۳۹۹a	۴۹/۳a	۵+۱۰
۱۱/۱a	-	-	-	-	-	۵۴/۲a	۳۹۴a	۴۱/۷ab	۵*+۱۲

علامت - = فراوانی زیر واحدمربوطه برای صفت مورد نظر به اندازه کافی موجود نبود بنابراین مقایسه میانگین انجام نشد.

1 - Null

جدول ٦ - همبستگی ساده خصوصیات کیفی و زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا

	ارتفاع رسوب	پروتئین	عددزلنی	حجم نان	سختی دانه	۱	۲*	نول	۱۳+۱۶	۱۷+۱۸	۷+۹	۷+۸	۷	۵+۱۰	۲+۱۲
ارتفاع رسوب	۱	۰/۲۶**	۰/۳**	۰/۱۶**	۰/۲**	۰/۰۷	۰/۲**	-۰/۳۱**	۰/۱۶**	۰/۰۰۵	۰/۰۷	۰/۰۶	-۰/۳*	۰/۲۸**	-۰/۲۳**
پروتئین	-	۱	۰/۷۳**	۰/۷۲**	۰/۲۶**	-۰/۰۱	۰/۰۶	-۰/۰۶	۰/۰۳	۰/۰۵	۰/۱۵**	-۰/۱۵*	-۰/۱	۰/۰۵	-۰/۰۵
عددزلنی	-	-	۱	۰/۶۸**	۰/۵**	-۰/۰۲	۰/۱۶**	-۰/۱۶**	۰/۰۰۲	۰/۰۲	۰/۰۳	-۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۰۱	-۰/۰۴
حجم نان	-	-	-	۱	۰/۵۵**	-۰/۰۲	۰/۱۴*	-۰/۱۴*	۰/۰۰۷	-۰/۰۳	۰/۱۴*	-۰/۰۴	-۰/۰۳	۰/۰۴	-۰/۰۶
سختی دانه	-	-	-	-	۱	-۰/۰۴	۰/۱۵*	-۰/۱۲*	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۰۰۷	۰/۰۷	-۰/۰۷	۰/۰۹	۰/۰۹
۱	-	-	-	-	-	۱	۰/۶۲**	-۰/۳**	-۰/۰۰۳	۰/۰۰۹	-۰/۰۶	۰/۰۹	۰/۰۲	-۰/۱۲*	۰/۲۱*
۲*	-	-	-	-	-	-	۱	-۰/۴۷**	۰/۰۲	۰/۰۴	۰/۰۸	-۰/۱۲*	-۰/۰۰۲	۰/۲۱*	-۰/۲۱**
نول	-	-	-	-	-	-		۱	-۰/۰۲	-۰/۰۶	-۰/۰۲	۰/۰۴	۰/۰۲	-۰/۱	۰/۰۶
۱۳+۱۶	-	-	-	-	-	-	-	-	۱	-۰/۱۳	-۰/۲۳**	-۰/۱۷*	-۰/۰۸	۰/۰۶	-۰/۰۳
۱۷+۱۸	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۱	-۰/۳۵**	-۰/۲۶**	-۰/۱۴*	-۰/۰۶	۰/۱۱
۷+۹	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۱	-۰/۴۵**	-۰/۲۲**	۰/۱۵*	-۰/۱۵*
۷+۸	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۱	-۰/۱۷*	-۰/۱۱	۰/۱۱
۷	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۱	۰/۰۶	-۰/۱۶*
۵+۱۰	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۱	-۰/۹۱*

*و** بترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد.

از نکات مهم همبستگی مثبت و معنی‌دار سختی دانه با حجم‌رسوب SDS، حجم نان، پروتئین و عدد زلنی است. در توجیه این مطلب می‌توان گفت آرد گندم‌های سخت مقادیر بیشتری دانه‌های نشاسته خسارت دیده دارند و می‌توانند دو برابر وزن خود آب جذب کنند، که خیلی بیشتر از مقدار آب جذب شده توسط دانه‌های خسارت ندیده است.

به هر صورت آنچه مسلم است اینکه بین حجم رسوب SDS و ارزش والریمتری که یک شاخص مناسب از کل اجزاء فارینوگراف است همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد که می‌تواند برای تشخیص کیفیت گندم مورد توجه قرار گیرد.در مورد زیر واحدهاقابل ذکر است که زیر واحدهای ۱ و *۲ نسبت به زیر واحد نول و زیر واحد ۱۰+۵ نسبت به ۱۲+۲ در اصلاح کیفیّت مورد توجه قرار گیرند. در مکان ژنی GLU-B1 زیر واحدهای ۸+۷ ، ۱۸+۱۷ ، ۱۶+۱۳ نسبت به ۹+۷ اثر مطلوبتری دارند. گلوتنین‌های با وزن مولکولی پایین که نسبت بیشتری از گلوتنین‌های آرد را تشکیل می‌دهند به علت اثرات متقابل با گلوتنین‌های با وزن مولکولی بالا در بهتر شناختن علل تنوع ارزش نانوائی موثر است.

سپاسگزاری

بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه تهران بخاطر تأمین هزینه طرح و همچنین از سازمان تحقیقات کشاورزی و بخش تحقیقات به نژادی غلات کرج بخاطر در اختیار گذاردن بذر مورد نیاز تشکر و سپاسگزاری می‌گردد.

مراجع مورد استفاده

REFERENCES

۱ - آراسته، ن.، ۱۳۷۰. تکنولوژی غلات انتشارات آستان قدس . ۴۱۴ ص

۲ - رجب‌زاده، ن.، ۱۳۵۷. تکنولوژی غلات، (ج ۱). انتشارات پژوهشکده غله و نان ایران، ۳۹۰ ص

3 - Bietz, J.A., K.W. Shepherd, & J.S. Wall. 1975. Single kernel analysis of glutenin: use in wheat genetic and breeding. Cereal Chem. 52:513-532.

4 - Brabender Co. Testing method with farinograph. Duisburg. West Ger.

5 - Branlard, G., and M. Dardivet. 1985. Diversity of grain protein and bread wheat quality.II. correlation between high molecular weight subunits of glutenin and flour quality characteristics.J. Cereal Sci. 3:345-354

6 - Campbell, W.P., CW. Wrigley, P.G. Cressy, and R. Slack. 1987 . Statistical correlation between quality attributes and grain - protein composition of 71 hexapolid wheats used as breeding parents. Cereal chem. 64(4):293-299

7 - Cressy, P. J.,W.P. Campbell,C.W. Wrigley, and W.B. Griffin. 1987. Statistical correlation between quality attributes and grain- protein composition for 60 advanced lines of cross bread wheat. Cereal Chem. 64(4):299-301

8 - Dalbelinperuffo, A., N.E. Pogna, C. Tutta and A. Albuzio. 1985. Isolation and partial characteristion of gamma gliadin 40 and 43.5 associated with quality in common wheat. J. Cereal Sci. 3: 355-362

9 - Dick, J.A., J.S. Quik. 1983. A modified screeing test for rapid estimation of gluten strength in early generation durum wheat breeding lines. Cereal Chem. 40:315-318

10 - Fulington, J. G., E.W. Cole and D.D. Kasarda. 1983. Quantitative SDS - PAGE of total proteins from different wheat varieties:effects of proteins content. Cereal Chem. 60:65-70

11 - Grarveland, A.D., W.G. Bosveld, J.P. Liehthn, G.H.E.Marselle, A. Moonen and Scheepstra. 1985. A model for the molecular structure of the glutenins from wheat flour. J. Cereal Sci. 3:1-16

12 - Gupta, R.B., Bateyil and F. Macritechie.1992. Relationship between protins composition and functional properties of wheat flours. Cereal Chem. 69(2):125-131

13 - Gupta, R.B., Y. Popineat,G. Lefebvret, M. Cornect, G.J. Lawrence and F. Macritechie . 1995. Biochemical basis of flour properties in bread wheats. J. Cereal Sci. 21:103-116

14 - Hoseney, R. 1986. Principales of cereal science and technology. AACCinc. Minesota. USA. 337PP

15 - Kgatkar, A.E., Belland, J.D. Schofield .1995. The dynamic rheological properties of glutens and gluten sub- fractions from wheats of good and poor bread making quality. J. Cereal Sci. 22:24-44

16 - Lafiandra, D., R.D. Ovidlo, E. Proceddu, Marglotta and G. Colopric . 1993. New data supporting high mr- glutenin subunits 5 and the determination of quality differences amoung the pairs 5+10 vs. 2+12. J. Cereal Sci. 18:197-205.

17 - Lapiny, L. 1980. Probability and statistic for modem engineering boston p.p 484-496

18 - Lapiny, R. 1987. The chemistryof cereal proteins CRC press INC

19 - Macritchie, F.,D.L. Ducrose and C.W. Wriley. 1990. Flour polypeptides related to wheat quality ADV. Cereal. Si.Technol.10:79

20 - Mansur, L.M., C.D. Qualset, D.D. Kasadra, R. Morris. 1990. Effects of cheyenne chromosomes on milling and baking quality in chinese spring wheat in relation to glutenin and gliadin storage proteins. Crop Sci. 30:593-602

21 - Morgunov, A.I., R.J. Crossa . 1993. Worldwide distriubution of GLU-1 alleles in bread wheat. J.Genet and Bread. 47:53-60

22 - Nei, M. 1978. Estimation of the average heterozygosity and genetic dictance from a small number of individuals. Genetics 89:1583-1590

23 - Payne, P.I and G.J. Lawrace. 1983. Catalogue of alleles for the complex gene loci GLU-B1 and GLU-D1 which code for high molecular weight subunits of glutenin hexaploid wheat. Cereal Reseach Communications 11(1):24-35

24 - Payne, P.I. 1984 . Wheat storage proteins their genetic and potential for manipulation by plant breeding. Philos. Trans.R. Soc. Lond. Ser. B. 304:359-371

25 - Peter, K., K.Krechting and M.J. Wim. 1991. Quantitative variation of total and individual high molecular weight glutenin subunits of wheat in relatoin to variation in environmental conditions. J.Sci.Food .Agri. 57:405-413

26 - Singh, N.K., K.W and Shepherd. 1988. Linkage mapping of the gene controlling endosperm proteins in wheat, Theor. Apli.Genet.75:658-941

Iranian J. Agric. Sci. Vol. 29 No.3 1998

Associations Between Seed Storage Protein (Glutenin) and Bread-making Quality in Advanced Breeding Lines of Wheat

GH. TOHIDFAR, C. ABDMISHANI AND B. YAZDISAMADI

Former Graduate Student and Porfessors, College of Agriculture,

University of Tehran, Karaj, Iran.

Accepted 30 Sep. 1998.

SUMMARY

In order to find the relationships between high molecular weight glutenin subunits and breadmaking quality of wheat, 280 advanced breeding lines of wheat were studied. We used SDS-PAGE procedure for fragmenting the glutenin and a total of 19 subunits were found of which 5+12 , 5*+12 subunits in GLU-D1 and 17+9 subunits in GLU-B1 haven't been reported before.Breadmaking quality of the lines was evaluated indirectly by farinograph test, protein %, loaf volume, hardness of seed, Zeleny and SDS-sedimentation test. Using one-way analysis of variance and regression analysis, we found that 1 and 2* subunits from Glu-A1, 17+18, 13+16 and 7+8 subunits from Glu-B1 loci were more valuable than the other subunits for breadmaking quality. Subunits 5+10 had significant favorable effect on bread-making quality than their allelic counterparts 2+12. The principal component analysis showed that the first two principal components explained 80% of the variation for the breadmaking quality. Coefficients of correlation between the first principal component and percent of protein, Zeleny, loaf volume, hardness of the seed and the correlation of the second principal component with SDS- sedimentation were 0.84, 0.90, 0.88, 0.66, and 0.99, respectively. The principal component analysis showed that the four principal components explained 81% of the variation for the HMW glutenin subunits. The allelic frequency in each country (origin of the lines) was used to estimate the dissimilarity coefficient by Euclidean distance method and also to determine the Nei's genetic identity index. Countries were clustered in 3 groups. Nei's genetic diversity for the three loci worked out for the countries. This study showed that coefficient of correlation between quality scoring system and diversity was negative, which means that the intensity of selection pressure towards good allels over a long period of time had been the main factor. Artificial selection for the good quality during the revolutionary period had been the main factor to reduce genetic diversity.

Keywords: Wheat, Glutenin, Seed Storage protein, Breadmaking quality & Electrophoresis.

تعیین رابطه پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه (گلوتنین) با ارزش نانوایی لاینهای پیشرفته گندم از طریق تکنیک الکتروفورز

قنبر توحید فر، سیروس عبد میشانی و بهمن یزدی صمدی

دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادان گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی

دانشگاه تهران - کرج

تاریخ پذیرش مقاله ۷۷/۷/۸

خلاصه

به منظور مطالعه رابطه زیر واحدهای گلوتنین دارای وزن مولکولی بالا و ارزش نانوائی گندم نان، ۲۸۰ لاین پیشرفته گندم مورد بررسی قرار گرفت. برای تفکیک زیر واحدهای گلوتنین از روش SDS - PAGE استفاده شد و در مجموع ۱۹ زیر واحد در ۳ مکان ژنی مشاهده گردید که زیر واحدهای ۱۲+۵ ، ۱۲+*۵ از مکان ژنی $GLU\text{-}D_1$ و ۹+۱۷ از مکان $GLU\text{-}B_1$ در مطالعات قبلی شناسائی نشده بود. ارزش نانوایی لاین‌ها با استفاده از آزمایشهای فارینوگراف، ارتفاع رسوب SDS، درصد پروتئین، حجم نان، عدد زلنی و سختی دانه تعیین و نتایج با استفاده از تجزیه واریانس یک طرفه و تجزیه رگرسیون مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. زیر واحدهای ۱ و *۲ از مکان $GLU\text{-}A_1$ و زیر واحدهای ۱۸+۱۷ ، ۱۶+۱۳ و ۸+۷ از مکان $GLU\text{-}B_1$ دارای ارزش بیشتری از لحاظ کیفیت نانوایی نسبت به سایر زیر واحدها بودند، در مکان ژنی $GLU\text{-}D_1$ زیر واحد ۱۰+۵ اثر معنی‌دار و مطلوبتری نسبت به زیر واحد ۱۲+۲ از نظر کیفیت داشت. در تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی ۲ مؤلفه اول ۸۰ درصد اطلاعات داده‌ها را توجیه کردند،همبستگی مولفه اصلی اول با درصد پروتئین، عدد زلنی، حجم نان و سختی دانه و همبستگی مؤلفه دوم با ارتفاع رسوب به ترتیب برابر با ۰/۸۴، ۰/۹، ۰/۸۸، ۰/۶۶، ۰/۹۹ بود. در تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی برای زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا ۴ مولفه اصلی مجموعاً ۸۱٪ واریانس داده‌ها را توجیه نمودند. از فراوانی آللی مبدأ لاین(در هر کشور)، برای محاسبه ضریب عدم تشابه به روش فاصله اقلیدسی و ضریب همسانی ژنتیکی نِی استفاده شد. با بکارگیری این ضرایب و روش تجزیه کلاستر، کشورهای مبدا لاین‌ها در سه گروه قرار گرفتند. براساس محاسبه مقادیر تنوع ژنتیکی از فرمول پیشنهادی نِی (در تمام مکانهای ژنی) برای هر کشور بین تنوع ژنتیکی و امتیاز نانوایی ژنوتیپ رابطه منفی مشاهده شد که ناشی از فشار انتخاب مصنوعی برای تثبیت آلل‌های مطلوب و ارتقاء کیفیت نانوایی است.

واژه‌های کلیدی: گندم، گلوتنین، پروتئین‌های ذخیره‌ای، ارزش نانوایی و الکتروفورز.

مقدمه

مطلوبیّت آرد برای تهیه نان بستگی به کیفیت و کمیّت گلوتن و اجزاء مهم تشکیل دهنده آن یعنی پروتئین‌های ذخیره‌ای عمده دانه گندم (گلوتنین و گلیادین) دارد. گلوتن گندم استعداد ایجاد حفره‌های ریزی که گاز CO_2 را نگهداری می‌کنند به خمیر می‌دهد که در حین عمل ورآمدن خمیر بوسیله مخمر طبیعی یا شیمیایی ایجاد می‌شوند(۲).

گلیادین گروه بزرگی از پروتئین‌هاست که متوسط وزن

مولکولی آن حدود ۴۰/۰۰۰ دالتون و شامل ۳۰ تا ۳۵ نوع پلی‌پپتید است که بصورت توده به هم پیوسته نیستند و در هنگام جذب آب حالت لزوجت به خمیر می‌دهند و به علت اثرات متقابل با چربی‌ها باعث نگهداری گاز CO_2 در موقع تخمیر می‌شوند (۱۵و۱). گلوتنین‌ها گروه ناهمگنی از پروتئین‌ها هستند که چند زنجیره‌ای بوده و شامل پیوندهای دی‌سولفید بین و داخل مولکولی بوده و حالت استحکام و ارتجاعیت به خمیر می‌دهند(۱۴و۱۵). با غلظت پایین ۲ - مرکاپتواتانول [1] پیوندهای دی‌سولفیدی بین مولکولی که در دسترس نیستند احیاء می‌شوند و با غلظت بالاتر پیوندهای دی‌سولفیدی بین مولکولی و داخل مولکولی احیاء می‌شوند(۱۱). لزوجت گلوتنین‌ها با از بین رفتن پیوندهای دی‌سولفیدی کاهش می‌یابد(۱۰). تکامل خمیر مربوط به پیوندهای دی‌سولفیدی بین مولکولی می‌باشد که با غلظت پایین مرکاپتواتانول احیاء می‌شوند (۱۸).

آلل‌های ژنتیکی کد کنندهٔ گلوتنین‌های با وزن مولکولی بالا در سه مکان ژنی مرکب ($GLU-D_1$, $GLU-A_1$ و $GLU-B_1$)روی بازوی بلند کروموزومهای همیولوگ گروه ۱ قرار دارند (۳). ماکری‌تیچ و همکاران (۱۹) نشان داده‌اند که ۶۰ - ۵۰ درصد خاصیت نانوایی گندم توسط مکان ژنی ($GLU-B_1$, $GLU-A_1$, $GLU-D_1$)GLU-1 تعیین می‌گردد. پاین و لارنس (۲۳) برای مکان ژنی $GLU-A_1$ سه آلل، مکان ژنی $GLU-B_1$ یازده آلل و مکان ژنی $GLU-D_1$ شش آلل گزارش کرده‌اند، گوپتا و همکاران (۱۲) ثابت کرده‌اند که اثر گلوتنین‌های با وزن مولکولی بالا بر روی پارامترهای استحکام خمیر بیشتر از گلوتنین‌های با وزن مولکولی پائین می‌باشد. چون گلوتنین‌های با وزن مولکولی بالانقش بیشتری در ایجاد پلیمرهای بزرگ دارند و همه گلوتنین‌های با وزن بالا اسید آمینه سیستئین در دو انتهای مولکول دارند در حالیکه گلوتنین های با وزن مولکولی پائین در قسمت پایانه N اسید آمینه سیستئین ندارند که این اختلاف در شکل و اندازه پلی‌مرها تاثیر می‌گذارد. تحقیقات گوپتا و همکاران(۱۳) نشان داده که خمیر حاصل از ژنوتیپ‌های با زیر واحد ۱۸+۱۷ مقاومت کمتری نسبت به زیر واحد ۸+۷ دارد. در مقایسه با زیر واحد ۱۲+۲ خمیر حاصل از ژنوتیپ‌های ۱۰+۵ مقاومت بیشتری دارد. در مطالعه‌ای (۲۵) شامل ۲ رقم کراکا[2] و سی‌تادل [3] با زیر واحدهای مشابه که در شش محل مختلف کشت شده بودند مشخص شد که کیفیت نانوائی خمیر رقم کراکا بهتر از سی‌تادل بود و این نشان می‌دهد که تاثیر جنبه‌های کمی زیر واحد در کیفیت بسیار مهم می‌باشد. برانلارد و داردیوت(۴) در مقایسه واریته‌ها دو تیپ از زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی زیاد را تشخیص دادند. یکی گروهی که با قدرت و ارتجاعیت گلوتن همبستگی داشتند (*۲و ۱۰+۵و ۹+۷)و دیگر گروهی که با قابلیّت توسعه خمیر همبستگی داشتند(۱و ۱۶+۱۳و ۱۸+۱۷). شواهد زیادی حاکی از آن است که مکان ژنی GLI-1 که امگا و بتاگلیادین راکُد می‌کند با مکان ژنی GLU-3 که گلوتنین‌های با وزن مولکولی پایین راکد می‌کند و روی بازوی کوتاه کروموزوم‌های گروه یک واقع شده‌اند همبستگی دارند(۲۶) در مطالعه‌ای (۸) ۷۲ رقم گندم ایتالیایی هگزاپلوئید حاوی نوارهای گاماگلیا دین ۴۰/۵ و ۴۳/۵ انجام شده واریته‌های دارای نوار گاما ۴۰ شامل نوار LMW-3 [4] با حرکت نسبی پایین‌تر از نوار LMW-4 موجود در واریته‌های حاوی نوار گاما ۴۳/۵ بودند. بر اساس مطالعات ژنتیکی مشخص شد نوار گاماگلیادین ۴۳/۵ با گلوتن قوی و گاما ۴۰ با گلوتن ضعیف و حجم نان کم رابطه دارد. طی همین تحقیقات مشخص شد که نوار LMW-3،LMW-4 ا بترتیب باعث ضعف و قوت گلوتن هستند و نوارهای گلیادین به عنوان نشانگر ژنتیکی عمل می‌کنند.

هدف از این تحقیق دستیابی به اطلاعات مناسب جهت استفاده کاربردی از تنوع پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه گندم در پیش‌بینی کیفیت نانوایی بوده است تا در نسلهای اولیه حاصل از تلاقی با اندک بذری که در اختیار است بتوان با روش SDS-PAGE [5] لاین‌های با گلوتن ضعیف را حذف نمود. چون این روش به تنهائی نمی‌تواند تفاوت بین ژنوتیپ‌ها را از لحاظ کیفیت مشخص نماید و آزمایش رسوب در مقیاس کوچک و روش فارینوگراف مطرح گردیده تا در نهایت تاثیر زیر واحدهای متفاوت و رابطهٔ آنها باکیفیت نانوایی تعیین گردد.

1 - Mercaptoethanol
2- Kraka
3- Citadel
4 - Low molecular weigth glutenin
5 - Sodium dodecyl suphate polyacrylamide gel electrophoresis

مواد و روشها

در این تحقیق ۲۸۰ لاین پیشرفته گندم نان (نسل‌های F_8 و F_9 گندم بخش به نژادی موسسه اصلاح بذر کرج) که محصول سال ۱۳۷۴ بودند در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی کرج مورد ارزیابی قرار گرفتند (از هر لاین ۵ عدد بذر). برای بررسی گلوتنین‌ها از ژل اکریل آمید ۱۰ درصد از طریق تکنیک SDS-PAGE که توسط فولینگتن و همکاران (۱۰) تعدیل شده است استفاده شد. ژل ۷/۵ و ۱۲ درصد به ترتیب برای تفکیک زیر واحد ۲ و *۲ از هم و زیر واحد ۹ و ۱۰ بکار رفت. تشخیص زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا طبق روش پاین و همکاران (۲۴) انجام گرفت. آزمون فارینوگراف و تفسیر فارینوگرام‌ها طبق کاتولوگ ارائه شده آن انجام شد(۴) و اطلاعات مناسبی از خواص خمیر مانند درصد جذب آب، مدت زمان اختلاط، پایداری خمیر، میزان شل‌شدن در نهایت ارزش والریمتری بدست آمد. جهت انجام آزمایش رسوب SDS از روش دیک و کوئیک (۹) با تغییراتی که توسط منصور و همکاران (۲۰) داده شده بود استفاده شد. درصد پروتئین، حجم نان، عدد زلنی، سختی دانه با استفاده از دستگاه NIR [1] تعیین گردید.

برای بررسی اثر مکان‌های ژنی گلوتنین بر روی حجم رسوب و خصوصیات کیفی دانه از برنامه GLM نرم‌افزار SAS استفاده شد. این نرم‌افزار مکان‌های ژنی و زیر واحدهای موجود در هر مکان ژنی را به عنوان فاکتور و سطوح هر فاکتور در نظر می‌گیرد. برای انجام تجزیه همبستگی، زیر واحدها به صورت متغیر نشانگر (۱۷) در نظر گرفته شدند و حضور و عدم حضور زیر واحدها به ترتیب با اعداد یک و صفر مشخص شد. این آزمون با استفاده از برنامه CORR نرم‌افزار SAS انجام شد. برای گروه‌بندی کشورهای مبداء لاین از تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA [2] با استفاده از گزینه Cluster نرم‌افزار SPSS استفاده شد. جهت انجام تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و به منظور یافتن ترکیباتی از P متغیر X_1، X_2، ....و X_p جهت ایجاد شاخصهای مستقل Z_1، Z_2، ...، Z_p از متغیرهای صفات کیفی اندازه‌گیری شده‌دانه‌ازبرنامه Prin Comp درنرم‌افزار SAS استفاده شد.

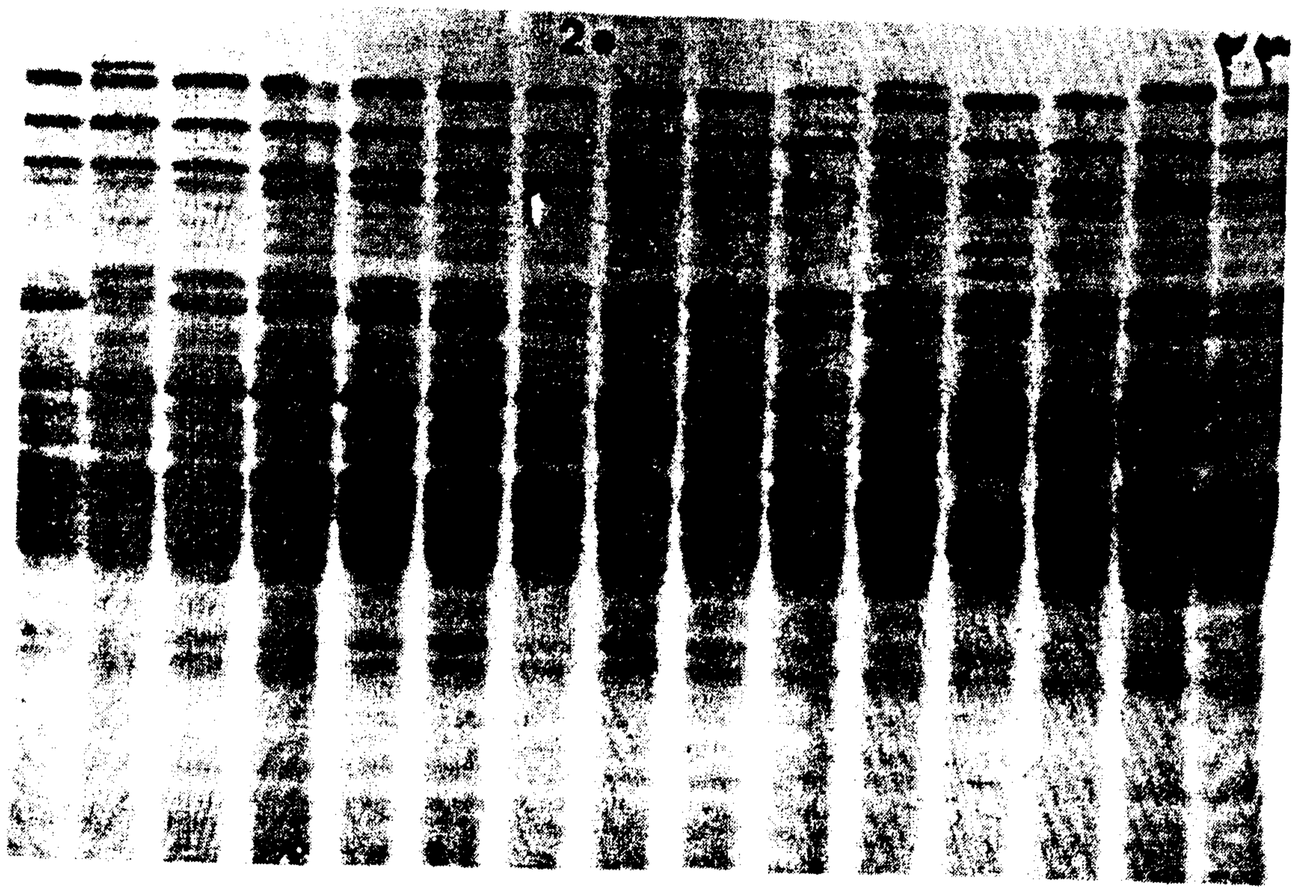
نتایج و بحث

در مکان ژنی $GLU\text{-}A_1$ زیر واحدهای ۱ و *۲، در مکان ژنی $GLU\text{-}D_1$ زیر واحد ۱۰+۵ و در مکان ژنی $GLU\text{-}B_1$ زیر واحدهای ۱۸+۱۷، ۹+۷ ، ۸+۷ به کرات مشاهده شد. با توجه به اینکه این زیر واحدها در گندم دارای تاثیر مثبت برروی کیفّیت هستند حضور آنها در لاین‌های مورد بررسی یک امتیاز مهم به حساب می‌آید. در مجموع ۱۹ زیر واحد در سه مکان ژنی مشاهده گردید که تعدادی از آنها درمطالعات قبلی شناسایی نشده بود. به عنوان مثال می‌توان زیر واحد ۹+۱۷ از مکان ژنی $GLU\text{-}B_1$ را نام برد که جزء X آن در سطح زیر واحد ۱۷ و جزء Y آن در سطح زیر واحد ۹ ظاهر شد. دو زیر واحد در مکان ژنی $GLU\text{-}B_1$ مربوط به زیر واحدهایی بودند که مشابه آنها قبلاً توسط لافیندرا (۱۶) در گندم فیرولو [3] و مورگانو و همکاران (۲۱) تحت عنوان ۱۲+۵ و ۱۲+ *۵ گزارش شده‌اند، بطوری که جز X مربوط به زیر واحد ۱۲+*۵ بالاتر از زیر واحد ۵ و پایین‌تر از زیر واحد ۲ ظاهر شد (شکل ۲). لافیندرا و همکاران (۱۶) نشان دادند که زیر واحد *۵ حاصل جهش نقطه‌ای در نوکلئوتید ۳۴۴ زیر واحد ۲ می‌باشد که باعث می‌شود اسید آمینه سرین جایگزین اسید آمینه سیستئین شود.

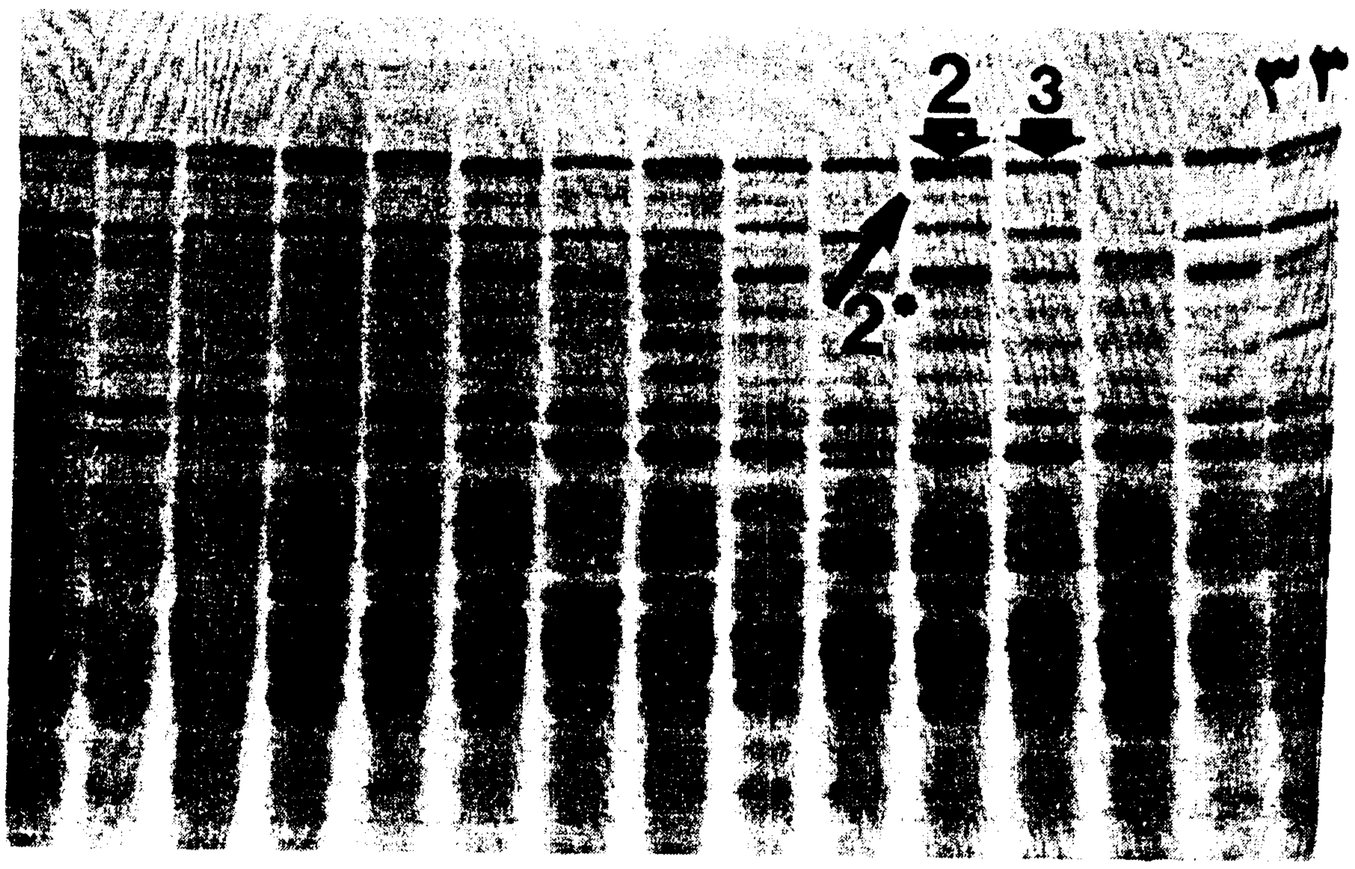
دندورگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای کشورهای مبدأ لاین از نقطه نظر ضریب همسانی ژنتیکی (۲۲) در شکل ۱ دیده می‌شود. با توجه به این شکل کشورهای مبدأ لاین به سه گروه تقسیم شده‌اند. از موارد قابل توجه در کلاستر اول زیر کلاستر مکزیک - سوریه - ایران با آب و هوای شاخص مدیترانه‌ای گرم و خشک و تبادل مواد ژنتیکی بین آنها می‌باشد. زیر کلاستر بعدی شامل آمریکا - بلغارستان - مجارستان می‌باشد که سابقه طولانی در اصلاح گندم دارند. تمام آلل‌هایی که در این کلاستر یافت می‌شوند امتیاز زیادی از نظر کیفیت نانوائی دارند. در کلاستر دوم کشورهای رومانی و ترکیه قرار دارند که در مکان ژنی $GLU\text{-}D_1$ آنها زیر واحد ۱۰+۵ با فراوانی صددرصد دیده می‌شود. میانگین امتیاز ژنوتیپ این کلاستر بیشتر از کلاستر اول است. در کلاستر سوم زیر واحدهای ۱ و ۱۲+۲ با فراوانی صددرصد مشاهده شدند که امتیاز ژنوتیپ آنها پایین‌تر از کلاستر دوم است.

جهت تجزیه به مولفه‌های اصلی از متغیرهای حجم‌رسوب،

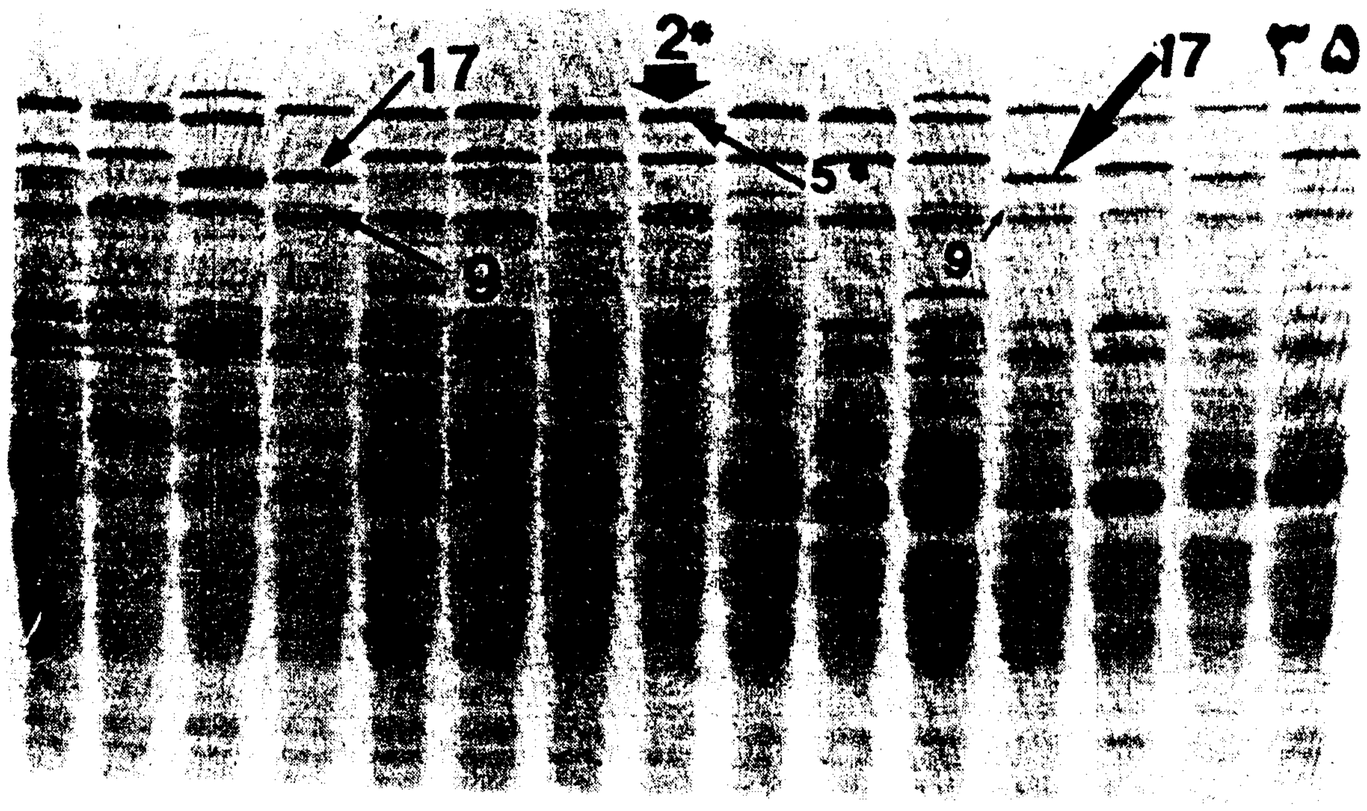
1 - Near infrarete
2- Nweighted pair Group method using arthmathic average
3 - Firollo



ژل ۱۰ درصد به روش SDS-PAGE

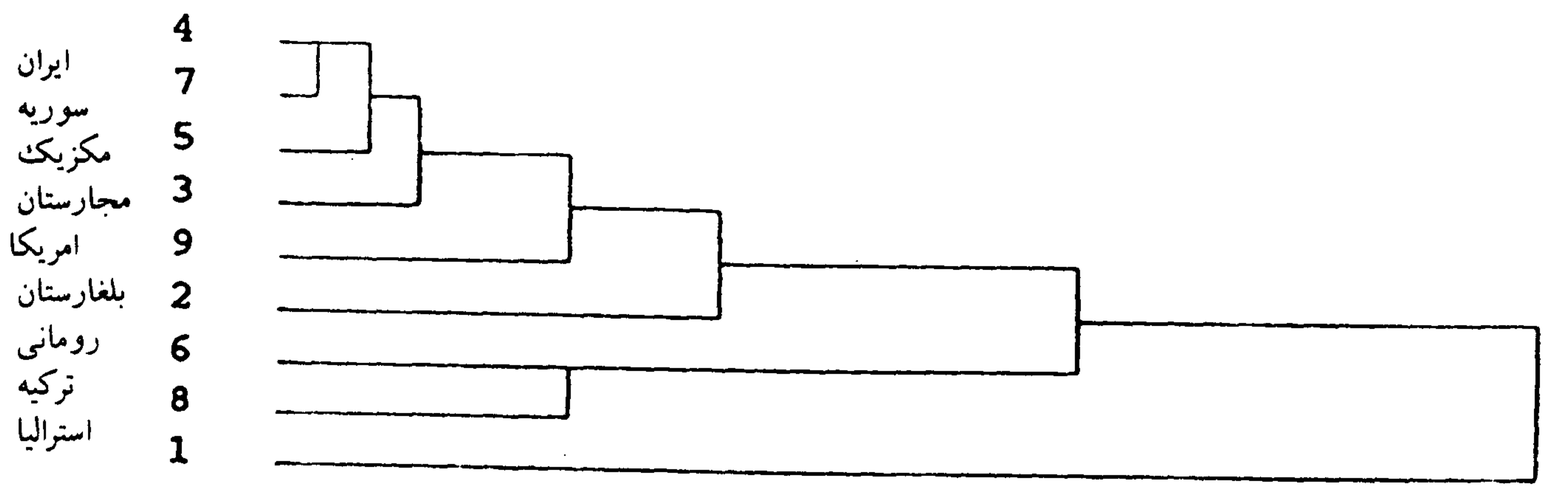


ژل ۷/۵ درصد به روش SDS-PAGE



ژل ۱۰ درصد به روش SDS-PAGE

انواع زیر واحدهای مشاهده شده گلوتنین‌های با وزن مولکولی بالا به روش SDS-PAGE



شکل ۱ - دندورگرام تجزیه کلاستر برروی ضرایب همسانی ژنتیکی کشورهای مبداء لاین‌ها

درصد پروتئین، عددزلنی، حجم نان و سختی دانه استفاده شد که نتایج در جداول ۱ و ۲ آمده است. بعد از استاندارد کردن داده‌ها ۲ مؤلفه اول ۸۰٪ اطلاعات داده‌ها (جدول ۱) را توجیه نمودند. بدیهی است که این مؤلفه‌ها می‌توانند جایگزین ۵ متغیر اصلی شوند که کاهش حجم زیادی از داده‌ها را به همراه دارد بدون اینکه اطلاعات زیادی راجع به متغیرهای اصلی از دست برود. اولین مؤلفه، وزنهای مثبت به تمامی متغیرها می‌دهد و به عنوان شاخصی از کیفیت محسوب می‌شود. مؤلفه دوم دو گروه متغیرها یعنی ارتفاع رسوب را از یک طرف و درصد پروتئین و سختی دانه را از طرف دیگر با یکدیگر مقایسه می‌کند. برای قضاوت در مورد اینکه تا چه اندازه دو مؤلفه اصلی تعریف خوبی برای ۵ متغیر اولیه است، همبستگی چندگانه بین مؤلفه‌ها و متغیرها محاسبه شد که مؤلفه اول بیشتر روی متغیرهای

جدول ۱ - نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی مربوط به متغیرهای کمی

		ریشه‌های مشخصه				
مؤلفه‌ها	واریانس مؤلفه‌ها	X_1 (ارتفاع رسوب)	X_2 (درصدپروتئین)	X_3 (عددزلنی)	X_4 (حجم‌نان)	X_5 (سختی نان)
۱	۰/۶۰	۰/۲۴	۰/۵	۰/۵۲	۰/۵۱	۰/۳۸
۲	۰/۲۱	۰/۹۵	-۰/۰۷	-۰/۰۳	-۰/۲۷	-۰/۱
۳	۰/۱۵	۰/۰۲۸	-۰/۵۳	-۰/۱	-۰/۰۲	۰/۸۳
۴	۰/۰۶	۰/۱۵	۰/۰۹	-۰/۷۵	۶۲	۰/۰۲
۵	۰/۰۳	-۰/۰۷	۰/۶۷	-۰/۳۶	-۰/۵۱	۰/۳۶

جدول ۲ - ضرایب همبستگی بین متغیرهای اصلی و دو مؤلفه اول با آنها

	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	Z_1	Z_2
ارتفاع رسوب	۱	۰/۲۶	۰/۳	۰/۱۶	۰/۲	۰/۴۱	۰/۹
درصدپروتئین	–	۱	۰/۷۳	۰/۷۲	۰/۲۶	۰/۸۴	۰/۰۷۰۶
عدد زلنی	–	–	۱	۰/۶۸	۰/۵	۰/۹	-۰/۰۳
حجم نان	–	–	–	۱	۰/۵۵	۰/۸۸	-۰/۲۵
سختی نان	–	–	–	–	۱	۰/۶۶	۰/۰۸۶

حجم نان و عدد زلنی و مؤلفه دوم روی متغیرارتفاع رسوب تکیه دارد.

براساس فرمول پیشنهادی نی (۲۲) مقادیر تنوع ژنتیکی (H) برای هر مکان ژنی برای ۹ کشور مبداء لاین محاسبه شد(جدول ۳) و معادله رگرسیون بین تنوع ژنتیکی (H) و امتیاز ژنوتیپ به صورت H=۹+۲/۷X و همبستگی بین تنوع ژنتیکی و امتیاز ژنوتیپ برابر با r= -۰/۶ بدست آمد مورگانو و همکاران (۲۱) این میزان همبستگی را r= -۰/۵ گزارش کرده‌اند و آنرا ناشی از اعمال فشار انتخاب در طول تکامل در جهت تثبیت آلل‌های مطلوب دانسته و مشخص نمودند واریته‌های با میزان تنوع ژنتیکی پایین کیفیت بالایی دارند.

نتایج تجزیه واریانس برای تاثیر مکان‌های ژنی و مقایسه میانگین‌ها و همبستگی خصوصیات کیفی و زیر واحدها در جداول ۴ تا ۶ نشان داده شده‌اند. بطوریکه مشاهده می‌شود این آزمون برای

جدول ۳ - میزان تنوع ژنتیکی برای مبدأ لاین‌ها(کشور)

کشور	GLU-A1	GLU-B1	GLU-D1	H	امتیازژنوتیپ‌نانوائی (براساس پاین)
استرالیا	۰	۰/۶۷	۰	۰/۳۰	۸
بلغارستان	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۴	۷/۶
مجارستان	۰/۵۴	۰/۵۴	۷۲	۰/۶۴	۶/۷
ایران	۰/۶۶	۰/۷۱	۰/۵	۰/۶۳	۸
مکزیک	۰/۵۲	۰/۶۷	۰/۴۳	۰/۵۵	۸/۳
رومانی	۰/۴۵	۰	۰	۰/۲۲	۸/۷
سوریه	۰/۶۴	۰/۶۲	۰/۴۹	۰/۶۰	۸
ترکیه	۰/۳۷	۰/۷۵	۰	۰/۵	۷/۷
امریکا	۰/۶۴	۰/۶۶	۰/۶۰	۰/۶۸	۶/۷
میانگین	۰/۴۶	۰/۴۷	۰/۳	۰/۵	

جدول ۴ - میانگین مربعات برای خصوصیات کیفی

مکان ژنی	ارتفاع رسوب	حجم نان	سختی دانه	ارزش والریمتری	تکامل خمیر	میزان شل شدن	جذب آب %	پایداری خمیر	پروتئین درصد
GLU-A1	۳۳۹۱/۸**	۱۲۵۰۱**	۱۷۲**	۸۳	۳/۲	۴۵۳۵	۵/۵	۲۴/۳	۱
GLU-B1	۶۲۳/۶*	۴۰۱۶/۵	۹۲	۱۹۸**	۲۶/۹	۹۱۸۲/۲*	۱۳/۱	۱۴/۴	۲/۶**
GLU-D1	۱۷۷۳/۲*	۱۱۲/۷	۴۱/۴	۲۲۶**	۰/۳	۵۲۴۱	۱/۳	۴۷/۷*	۰/۴
GLU-A1xGLU-B1	۳۷۷/۷	۵۴۹۹/۳	۴۳	۶۲	۱۲	۱۹۵۸	۵/۷	۱۲/۸	۱
GLU-A1xGLU-D1	۶۶۸/۴*	۷۱۲۵*	۵۱	۷/۱	۲۳/۶	۵۱۸	۲۳/۲	۸/۴	۲/۵*
GLU-B1xGLU-D1	۶۵۶/۸*	۲۴۵۷	۱۰۱/۹*	۷۹*	۱۹/۳	۲۷۱۴	۶/۵	۶/۲	۰/۴
GLU-A1xGLU-B1xGLU-D1	۰/۳*	۷۸۳	۴۰/۵*	۶/۶*	۱۱۴/۸	۴۹۳	۶/۵	۷/۲	۰/۴
R^2	۰/۳	۰/۲	۰/۲	۰/۸	۰/۶	۰/۸	۰/۷	۰/۷	۰/۱۹

*و** بترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

اثرات اصلی GLU-A1 برای ارتفاع رسوب، حجم‌نان، سختی دانه معنی‌دار گردید. مقایسه میانگین‌ها به روش دانگن نشان داد که زیر واحدهای ۱ و *۲ هر دو ارزش والریمتری، حجم نان، ارتفاع رسوب SDS و پایداری خمیر بهتری نسبت به زیر واحد نول [1] دارند که با نتایج کریسی و همکاران (۷) مطابق است. اثرات اصلی مکان ژنی B1 برای ارتفاع رسوب و ارزش والریمتری و هم چنین میزان شل شدن خمیر، درصد پروتئین معنی‌دار شد که با نتایج منصور و همکاران (۲۰) مطابقت دارد. زیر واحد ۷ دارای میانگین بیشتری برای صفت شل شدن خمیر و میانگین کمتری برای ارزش والریمتری بود با توجه به ضرایب همبستگی، مشاهده می‌گردد که زیر واحد ۷ با ارزش والریمتری همبستگی منفی (r= -۰/۳۷**) و با صفت شل شدن خمیر همبستگی مثبت (r=۰/۳*) داشته که بر ارزش نامطلوب آن صحّه می‌گذارد. زیر واحد ۸+۷ بالاترین میانگین برای ارزش والریمتری و کمترین میانگین برای صفت شل شدن خمیر را دارد بامراجعه به جداول همبستگی نتایج اخیر قابل انتظار است که با نتایج کمپیل و همکاران(۶) مطابقت دارد.

زیر واحدهای ۱۶+۱۳ و ۸+۷ کمترین میانگین را برای صفت شل‌شدن خمیر داشتند که مطلوب است. در مکان ژنی D1 زیر واحد ۱۰+۵ در کلیه صفات بجز شل‌شدن خمیر بالاترین میانگین را نسبت به بقیه زیر واحدها دارد که با نتایج پاین و همکاران (۲۴)، کریسی و همکاران(۷)، کمپ بل و همکاران (۶) مطابق است. زیر واحد ۱۲+۲ میانگین بالاتری را برای صفت شل‌شدن خمیر و تکامل خمیر نسبت به زیر واحد ۱۰+۵ نشان داده با توجه به همبستگی منفی بین دو صفت تکامل خمیر و میزانِ شل‌شدن (r= -۰/۴۳*) این دو نتیجه خلاف هم هستند که ممکن است میانگین بالای تکامل خمیر متاثر از همبستگی مثبت و معنی‌دار زیر واحد ۱۲+۲ با زیر واحد ۱ (r=۰/۲۱*) باشد. زیرا واحد ۱ با صفت تکامل خمیر همبستگی مثبت دارد.

جدول ۵ - میانگین صفات مربوط به کیفیت نانوائی برای زیر واحدهای گلوتنین با وزن ملکولی بالا

پروتئین خمیر (درصد)	پایداری خمیر (دقیقه)	جذب آب (درصد)	میزان شل‌شدن (فارینوگراف)	تکامل خمیر (دقیقه)	ارزش والریمتری	سختی دانه	حجم نان (ml)	ارتفاع رسوب (mm)	زیرواحدهای‌گلوتنین باوزن ملکولی بالا
۱۰/۸a	۰/۹۱a	۶۸/۸a	۲۰۵/۳b	۱/۴a	۳۳/۵a	۵۸a	۴۰۷/۴a	۴۸/۹a	۲*
۱۰/۷a	۰/۸۶a	۶۷/۷a	۲۲۲/۶ab	۱/۵a	۳۲a	۵۶ab	۳۹۵/۷ab	۴۶/۷a	۱
۱۰/۵a	۰/۵۱b	۶۷/۳a	۲۴۹/۳a	۱/۳a	۲۷/۵b	۵۵b	۳۸۱b	۳۵/۷b	نول
۱۰/۳ab	۰/۵۶a	۶۶/۴ab	۲۵۴ab	۱/۱a	۲۵/۶c	۵۵a	۳۹۱/۲a	۴۲/۶b	۷
۱۰/۲b	۰/۷۷a	۶۵/۸b	۲۳۳b	۱/۵a	۲۹bc	۴۹b	۳۵۸/۵b	۴۲/۳b	۶+۸
۱۰/۴ab	۰/۹۶a	۶۹/۶a	۱۶۶c	۱/۶a	۳۹a	۵۷/۶a	۳۹۰/۵a	۴۷/۷ab	۷+۸
۱۰/۹a	۰/۵۵a	۶۸/۳a	۲۶۶a	۱/۴a	۲۵/۷c	۵۷/۲a	۴۰۷/۹a	۴۲/۸b	۷-۹
۱۰/۸ab	۰/۹۸a	۶۷/۳ab	۲۱۱bc	۱/۷a	۳۴ab	۵۷/۳a	۲۹۹/۱a	۵۴/۸a	۱۳+۱۶
۱۰/۸ab	۰/۹۷a	۶۷/۱ab	۲۱۸ab	۱/۱a	۳۲b	۵۷/۳a	۳۹۴/۳a	۴۴/۴ab	۱۷+۱۸
۱۰/۶a	۰/۶۶a	۶۷/۶a	۲۲۸a	۱/۵a	۲۹/۸a	۵۶a	۳۹۵a	۴۰/۲ab	۲+۱۲
۱۰/۵a	-	-	-	-	-	۵۷/۷a	۴۰۶/۷a	۲۷b	۳+۱۲
۱۰/۷a	۰/۹۱a	۶۷/۹a	۲۱۶a	۱/۴a	۳۳/۱a	۵۷/۵a	۳۹۹a	۴۹/۳a	۵+۱۰
۱۱/۱a	-	-	-	-	-	۵۴/۲a	۳۹۴a	۴۱/۷ab	۵*+۱۲

علامت - = فراوانی زیر واحدمربوطه برای صفت مورد نظر به اندازه کافی موجود نبود بنابراین مقایسه میانگین انجام نشد.

1 - Null

جدول ٦ - همبستگی ساده خصوصیات کیفی و زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا

	ارتفاع رسوب	پروتئین	عددزلنی	حجم نان	سختی دانه	۱	۲*	نول	۱۳+۱۶	۱۷+۱۸	۷+۹	۷+۸	۷	۵+۱۰	۲+۱۲
ارتفاع رسوب	۱	۰/۲۶**	۰/۳**	۰/۱۶**	۰/۲**	۰/۰۷	۰/۲**	-۰/۳۱**	۰/۱۶**	۰/۰۰۵	۰/۰۷	۰/۰۶	-۰/۳*	۰/۲۸**	-۰/۲۳**
پروتئین	-	۱	۰/۷۳**	۰/۷۲**	۰/۲۶**	-۰/۰۱	۰/۰۶	-۰/۰۶	۰/۰۳	۰/۰۵	۰/۱۵**	-۰/۱۵*	-۰/۱	۰/۰۵	-۰/۰۵
عددزلنی	-	-	۱	۰/۶۸**	۰/۵**	-۰/۰۲	۰/۱۶**	-۰/۱۶**	۰/۰۰۲	۰/۰۲	۰/۰۳	-۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۰۱	-۰/۰۴
حجم نان	-	-	-	۱	۰/۵۵**	-۰/۰۲	۰/۱۴*	-۰/۱۴*	۰/۰۰۷	-۰/۰۳	۰/۱۴*	-۰/۰۴	-۰/۰۳	۰/۰۴	-۰/۰۶
سختی دانه	-	-	-	-	۱	-۰/۰۴	۰/۱۵*	-۰/۱۲*	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۰۰۷	۰/۰۷	-۰/۰۷	۰/۰۹	۰/۰۹
۱	-	-	-	-	-	۱	۰/۶۲**	-۰/۳**	-۰/۰۰۳	۰/۰۰۹	-۰/۰۶	۰/۰۹	۰/۰۲	-۰/۱۲*	۰/۲۱*
۲*	-	-	-	-	-	-	۱	-۰/۴۷**	۰/۰۲	۰/۰۴	۰/۰۸	-۰/۱۲*	-۰/۰۰۲	۰/۲۱*	-۰/۲۱**
نول	-	-	-	-	-	-		۱	-۰/۰۲	-۰/۰۶	-۰/۰۲	۰/۰۴	۰/۰۲	-۰/۱	۰/۰۶
۱۳+۱۶	-	-	-	-	-	-	-	-	۱	-۰/۱۳	-۰/۲۳**	-۰/۱۷*	-۰/۰۸	۰/۰۶	-۰/۰۳
۱۷+۱۸	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۱	-۰/۳۵**	-۰/۲۶**	-۰/۱۴*	-۰/۰۶	۰/۱۱
۷+۹	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۱	-۰/۴۵**	-۰/۲۲**	۰/۱۵*	-۰/۱۵*
۷+۸	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۱	-۰/۱۷*	-۰/۱۱	۰/۱۱
۷	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۱	۰/۰۶	-۰/۱۶*
۵+۱۰	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۱	-۰/۹۱*

*و** بترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد.

از نکات مهم همبستگی مثبت و معنی‌دار سختی دانه با حجم‌رسوب SDS، حجم نان، پروتئین و عدد زلنی است. در توجیه این مطلب می‌توان گفت آرد گندم‌های سخت مقادیر بیشتری دانه‌های نشاسته خسارت دیده دارند و می‌توانند دو برابر وزن خود آب جذب کنند، که خیلی بیشتر از مقدار آب جذب شده توسط دانه‌های خسارت ندیده است.

به هر صورت آنچه مسلم است اینکه بین حجم رسوب SDS و ارزش والریمتری که یک شاخص مناسب از کل اجزاء فارینوگراف است همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد که می‌تواند برای تشخیص کیفیت گندم مورد توجه قرار گیرد.در مورد زیر واحدهاقابل ذکر است که زیر واحدهای ۱ و *۲ نسبت به زیر واحد نول و زیر واحد ۱۰+۵ نسبت به ۱۲+۲ در اصلاح کیفیّت مورد توجه قرار گیرند. در مکان ژنی GLU-B1 زیر واحدهای ۸+۷ ، ۱۸+۱۷ ، ۱۶+۱۳ نسبت به ۹+۷ اثر مطلوبتری دارند. گلوتنین‌های با وزن مولکولی پایین که نسبت بیشتری از گلوتنین‌های آرد را تشکیل می‌دهند به علت اثرات متقابل با گلوتنین‌های با وزن مولکولی بالا در بهتر شناختن علل تنوع ارزش نانوائی موثر است.

سپاسگزاری

بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه تهران بخاطر تأمین هزینه طرح و همچنین از سازمان تحقیقات کشاورزی و بخش تحقیقات به نژادی غلات کرج بخاطر در اختیار گذاردن بذر مورد نیاز تشکر و سپاسگزاری می‌گردد.

مراجع مورد استفاده

REFERENCES

۱ - آراسته، ن.، ۱۳۷۰. تکنولوژی غلات انتشارات آستان قدس . ۴۱۴ ص

۲ - رجب‌زاده، ن.، ۱۳۵۷. تکنولوژی غلات، (ج ۱). انتشارات پژوهشکده غله و نان ایران، ۳۹۰ ص

3 - Bietz, J.A., K.W. Shepherd, & J.S. Wall. 1975. Single kernel analysis of glutenin: use in wheat genetic and breeding. Cereal Chem. 52:513-532.

4 - Brabender Co. Testing method with farinograph. Duisburg. West Ger.

5 - Branlard, G., and M. Dardivet. 1985. Diversity of grain protein and bread wheat quality.II. correlation between high molecular weight subunits of glutenin and flour quality characteristics.J. Cereal Sci. 3:345-354

6 - Campbell, W.P., CW. Wrigley, P.G. Cressy, and R. Slack. 1987 . Statistical correlation between quality attributes and grain - protein composition of 71 hexapolid wheats used as breeding parents. Cereal chem. 64(4):293-299

7 - Cressy, P. J.,W.P. Campbell,C.W. Wrigley, and W.B. Griffin. 1987. Statistical correlation between quality attributes and grain- protein composition for 60 advanced lines of cross bread wheat. Cereal Chem. 64(4):299-301

8 - Dalbelinperuffo, A., N.E. Pogna, C. Tutta and A. Albuzio. 1985. Isolation and partial characteristion of gamma gliadin 40 and 43.5 associated with quality in common wheat. J. Cereal Sci. 3: 355-362

9 - Dick, J.A., J.S. Quik. 1983. A modified screeing test for rapid estimation of gluten strength in early generation durum wheat breeding lines. Cereal Chem. 40:315-318

10 - Fulington, J. G., E.W. Cole and D.D. Kasarda. 1983. Quantitative SDS - PAGE of total proteins from different wheat varieties:effects of proteins content. Cereal Chem. 60:65-70

11 - Grarveland, A.D., W.G. Bosveld, J.P. Liehthn, G.H.E.Marselle, A. Moonen and Scheepstra. 1985. A model for the molecular structure of the glutenins from wheat flour. J. Cereal Sci. 3:1-16

12 - Gupta, R.B., Bateyil and F. Macritechie.1992. Relationship between protins composition and functional properties of wheat flours. Cereal Chem. 69(2):125-131

13 - Gupta, R.B., Y. Popineat,G. Lefebvret, M. Cornect, G.J. Lawrence and F. Macritechie . 1995. Biochemical basis of flour properties in bread wheats. J. Cereal Sci. 21:103-116

14 - Hoseney, R. 1986. Principales of cereal science and technology. AACCinc. Minesota. USA. 337PP

15 - Kgatkar, A.E., Belland, J.D. Schofield .1995. The dynamic rheological properties of glutens and gluten sub- fractions from wheats of good and poor bread making quality. J. Cereal Sci. 22:24-44

16 - Lafiandra, D., R.D. Ovidlo, E. Proceddu, Marglotta and G. Colopric . 1993. New data supporting high mr- glutenin subunits 5 and the determination of quality differences amoung the pairs 5+10 vs. 2+12. J. Cereal Sci. 18:197-205.

17 - Lapiny, L. 1980. Probability and statistic for modem engineering boston p.p 484-496

18 - Lapiny, R. 1987. The chemistryof cereal proteins CRC press INC

19 - Macritchie, F.,D.L. Ducrose and C.W. Wriley. 1990. Flour polypeptides related to wheat quality ADV. Cereal. Si.Technol.10:79

20 - Mansur, L.M., C.D. Qualset, D.D. Kasadra, R. Morris. 1990. Effects of cheyenne chromosomes on milling and baking quality in chinese spring wheat in relation to glutenin and gliadin storage proteins. Crop Sci. 30:593-602

21 - Morgunov, A.I., R.J. Crossa . 1993. Worldwide distriubution of GLU-1 alleles in bread wheat. J.Genet and Bread. 47:53-60

22 - Nei, M. 1978. Estimation of the average heterozygosity and genetic dictance from a small number of individuals. Genetics 89:1583-1590

23 - Payne, P.I and G.J. Lawrace. 1983. Catalogue of alleles for the complex gene loci GLU-B1 and GLU-D1 which code for high molecular weight subunits of glutenin hexaploid wheat. Cereal Reseach Communications 11(1):24-35

24 - Payne, P.I. 1984 . Wheat storage proteins their genetic and potential for manipulation by plant breeding. Philos. Trans.R. Soc. Lond. Ser. B. 304:359-371

25 - Peter, K., K.Krechting and M.J. Wim. 1991. Quantitative variation of total and individual high molecular weight glutenin subunits of wheat in relatoin to variation in environmental conditions. J.Sci.Food .Agri. 57:405-413

26 - Singh, N.K., K.W and Shepherd. 1988. Linkage mapping of the gene controlling endosperm proteins in wheat, Theor. Apli.Genet.75:658-941

Iranian J. Agric. Sci. Vol. 29 No.3 1998

Associations Between Seed Storage Protein (Glutenin) and Bread-making Quality in Advanced Breeding Lines of Wheat

GH. TOHIDFAR, C. ABDMISHANI AND B. YAZDISAMADI

Former Graduate Student and Porfessors, College of Agriculture,

University of Tehran, Karaj, Iran.

Accepted 30 Sep. 1998.

SUMMARY

In order to find the relationships between high molecular weight glutenin subunits and breadmaking quality of wheat, 280 advanced breeding lines of wheat were studied. We used SDS-PAGE procedure for fragmenting the glutenin and a total of 19 subunits were found of which 5+12 , 5*+12 subunits in GLU-D1 and 17+9 subunits in GLU-B1 haven't been reported before.Breadmaking quality of the lines was evaluated indirectly by farinograph test, protein %, loaf volume, hardness of seed, Zeleny and SDS-sedimentation test. Using one-way analysis of variance and regression analysis, we found that 1 and 2* subunits from Glu-A1, 17+18, 13+16 and 7+8 subunits from Glu-B1 loci were more valuable than the other subunits for breadmaking quality. Subunits 5+10 had significant favorable effect on bread-making quality than their allelic counterparts 2+12. The principal component analysis showed that the first two principal components explained 80% of the variation for the breadmaking quality. Coefficients of correlation between the first principal component and percent of protein, Zeleny, loaf volume, hardness of the seed and the correlation of the second principal component with SDS- sedimentation were 0.84, 0.90, 0.88, 0.66, and 0.99, respectively. The principal component analysis showed that the four principal components explained 81% of the variation for the HMW glutenin subunits. The allelic frequency in each country (origin of the lines) was used to estimate the dissimilarity coefficient by Euclidean distance method and also to determine the Nei's genetic identity index. Countries were clustered in 3 groups. Nei's genetic diversity for the three loci worked out for the countries. This study showed that coefficient of correlation between quality scoring system and diversity was negative, which means that the intensity of selection pressure towards good allels over a long period of time had been the main factor. Artificial selection for the good quality during the revolutionary period had been the main factor to reduce genetic diversity.

Keywords: Wheat, Glutenin, Seed Storage protein, Breadmaking quality & Electrophoresis.